

Aus der Dermatologischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. O. P. Hornstein

**Histoautoradiographische in-vitro Untersuchungen
bei Patienten mit endogenem Ekzem zur Frage
tageszeitlicher Schwankungen der epidermalen
DNS-Syntheseaktivität**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Josephine Hock
aus Bamberg

1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. O. P. Hornstein

Histoautoradiographische in-vitro Untersuchungen bei
Patienten mit endogenem Ekzem zur Frage tageszeitlicher
Schwankungen der epidermalen DNS-Syntheseaktivität

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Josephine H o c k
aus
Bamberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf

Referent: Prof. Dr. H. Schell

Korreferent: Prof. Dr. O.P. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung: 30.01.1984

In Dankbarkeit
meiner Mutter

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

=====

<u>1. Einleitung</u>	1
1.1. Circadiane Rhythmen verschiedener zell- kinetischer Parameter der gesunden Epidermis	1
1.2. Welche zellkinetischen Daten sind über das epidermale Proliferationsverhalten beim endogenen Ekzem (bzw. anderen Ekzem- formen) bekannt?	6
1.3. Fragestellung	9
<u>2. Material und Methodik</u>	10
2.1. Zellkinetik und Proliferationssteuerung der Epidermis	10
2.2. Prinzip und Anwendung der Histoautoradio- graphie bei zellkinetischen Untersuchungen	12
2.3. Prinzip und Anwendung des Radioimmuno- assay (RIA)	14
2.4. Versuchspersonen und Versuchsaufbau	16
2.5. Technik der in-vitro Zellmarkierung	18
2.6. Auswertung der Histoautoradiogramme und untersuchte zellkinetische Parameter	19
2.7. Methodik bei der Auswertung der Einzel- ergebnisse	21
<u>3. Ergebnisse</u>	22
3.1. Epidermaler ^3H -Index	22
3.2. Serumcortisol	30
3.3. Korrelation zwischen Serumcortisol und ^3H -Index	38
<u>4. Diskussion</u>	35
<u>5. Zusammenfassung</u>	61
<u>6. Literaturverzeichnis</u>	63
<u>7. Anhang (Tabellen 8 - 18)</u>	74
Danksagung	86
Curriculum vitae	87

1. Einleitung

1.1. Circadiane Rhythmen verschiedener zellkinetischer Parameter der gesunden Epidermis.

1.1.1. Mitosehäufigkeit

Die Mehrzahl bisher publizierter Untersuchungen über tageszeitliche Proliferationsschwankungen der gesunden menschlichen Epidermis stammt aus der Zeit vor der Einführung der Histoautoradiographie. Damals stand als zellkinetischer Parameter nur der Mitoseindex, d. h. der prozentuale Anteil an Mitosen einer Zellpopulation zur Verfügung, der aber ohne Kenntnis der Mitosedauer nur wenige Aussagen über die Wachstumsdynamik eines Gewebes zuläßt. Weiterhin sind gerade an der Epidermis mit einer Mitosehäufigkeit von nur durchschnittlich 1,17 - 1,51 pro 1000 Basalzellen (29, 31) Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen wegen der häufigkeitsbedingten Fehlerbreite problematisch.

So untersuchten COOPER und SCHIFF (18) bei Neugeborenen das nach Circumcision zu unterschiedlichen Tageszeiten angefallene Operationsmaterial hinsichtlich der Mitosehäufigkeit und fanden ein Maximum an Mitosezahlen gegen 21 Uhr und ein Minimum gegen 10 Uhr (bei durchschnittlich 5000 gezählten Zellkernen zwischen 35 und 7 Mitosen).

Zu ähnlichen Ergebnissen am gleichen Gewebe kamen COOPER (17) sowie BRODERS und DUBLIN (8).

An Erwachsenen untersuchten SCHEVING (76) über 22 Stunden und FISHER (30) über 23 Stunden die epidermale Mitoseaktivität. Sie fanden ein Maximum zwischen 24 und 3 Uhr, sowie ein Minimum zwischen 10 und 13 Uhr. Beide Autoren konnten neben dem Hauptmaximum noch weniger deutliche Nebenmaxima (14 und 7 Uhr) beobachten.

ROWE et al (68) untersuchten an 8 hautgesunden Probanden die Mitoseaktivität der Epidermis um 9 Uhr und um 15 Uhr (jeweils 3 Entnahmen) und fanden eine statistisch signifikante Erhöhung des Mitoseindex um 15 Uhr.

Alle genannten Untersuchungsergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Autoren	Anzahl der Versuchspersonen	Alter (Jhr.)	Lokalisation	Versuchsdauer	Tageszeit (h)	
					Maximum	Minimum
COOPER, SCHIFF (1938)	13 ♂	Neugeborene	Präputium	Transversalstudie	21	10
COOPER (1939)	57 ♂	Neugeborene	Präputium		22	5-10
BRODERS, DUBLIN (1939)	14 ♂	Neugeborene	Präputium		21	10
SCHEVING (1959)	12 ♂	20	Schulter	22-Std. Zeitraum	0-3	10-13
FISHER (1968)	keine Angaben	Erw.	Arm	23-Std. Zeitraum	1-3,7	13
ROWE, DIXON (1972)	keine Angaben	40	Rücken	9 u. 15 Uhr	15	9

Tab. 1 : Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen des epidermalen Mitoseindexes beim Menschen



1.1.2. DNS-Syntheseaktivität

Über histoautoradiographische Untersuchungen zu tageszeitlichen Schwankungen der epidermalen DNS-Syntheseaktivität, berichteten 1968 erstmals KAHN et al (46). Die Autoren bestimmten bei 9 Erwachsenen (7 Männer, 2 Frauen) in 6 stündigen Abständen über 24 Stunden nach intracutaner Applikation von ^3H -Thymin den prozentualen Anteil DNS-synthetisierender basaler Zellkerne (basaler ^3H -Index) und fanden um 24 Uhr ein geringes, aber statistisch signifikantes Maximum.

Dagegen konnten PULLMANN et al (63) bei 3 erwachsenen Männern nach ^3H -Thymin-Markierung in vitro weder tageszeitliche Variationen des ^3H -Indexes, noch von Teilphasen des Zellzyklus (S-Phase) finden.

In der jüngsten Untersuchung von SCHELL et al (74) über einen Zeitraum von 48 und 66 Stunden, an 12 männlichen Probanden (Alter zwischen 20 und 27 Jahren) unter weitgehend standardisierten Versuchs- und Auswahlbedingungen (gleiche Lokalisation der Biopsieentnahmen, gleiche Altersklasse der Probanden, ähnliche Lebensgewohnheiten, gleiche experimentelle Bedingungen der in-vitro Zellmarkierung und Auswertung) konnte eine circadiane Rhythmik des epidermalen ^3H -Indexes nachgewiesen werden, mit einem Maximum um 6 Uhr und einem Minimum um 18 Uhr.

Dagegen konnte GELFANT (33) in seiner in-vivo Untersuchung an 10 hautgesunden männlichen Probanden (Durchschnittsalter: 27 Jahre), zu den Entnahmepunkten um 9 Uhr, 15 Uhr, 9 Uhr und 21 Uhr kein Maximum oder Minimum des ^3H -Indexes feststellen.

Die genannten Untersuchungsergebnisse wurden in Tab. 2 zusammengefaßt.

Autoren	Anzahl der Versuchs- personen	Alter (Jahre)	Lokali- sation	Versuchs- dauer	Tageszeit (h)		Para- meter
					Maximum	Minimum	
KAHN WEINSTEIN FROST (1968)	7 ♂ 2 ♀	Ø 61	Abdomen		24	—	³ H-In- dex in vivo
PULLMAN LENNARTZ STEIGLEDER (1974)	3 ♂	Ø 42	Abdomen		—	—	³ H-In- dex in vitro
SCHELL SCHWARZ HORNSTEIN BERNLOCHNER WEGHORN (1981)	12 ♂	20-27	Oberarm- innen- seite	Longitudi- nalstudie über 48 u. 66 Stunden	6	18	³ H-In- dex in vitro
GELFANT (1982)	10 ♂	Ø 27	Oberarm	9,15,9 u. 21 Uhr	—	—	³ H-In- dex in vivo

Tab. 2 : Untersuchungen über tageszeitliche Schwankungen
des epidermalen ³H-Indexes beim Menschen

1.2. Welche zellkinetischen Daten sind über das epidermale Proliferationsverhalten beim endogenen Ekzem (bzw. anderen Ekzemformen) bekannt?

M. GLOOR et al (34) untersuchten in einer in-vitro Studie an 15 Patienten mit seborrhoischem Ekzem und 15 Kontrollpersonen histoautoradiographisch die nichterkrankte Epidermis der Stirn, mit Hilfe des Doppelmarkierungsverfahrens (^{14}C -Thymidin und ^3H -Thymidin). In beiden Gruppen befanden sich 14 Männer und 1 Frau. Die Biopsieentnahmen erfolgten tgl. nur zu einem Zeitpunkt (10 Uhr) im Juli und August 1980.

Die Ergebnisse sind in Tab. 3 zusammengestellt.

	Ekzempatienten	Kontrollgruppe
^3H -Index (%)	$2,46 \pm 0,63$	$3,93 \pm 1,38$
S-Phasendauer (h)	$14,88 \pm 2,82$	$7,88 \pm 0,97$

Tab. 3 : Untersuchungsergebnisse von M. GLOOR et al 1980.

Das wesentliche Ergebnis dieser Untersuchung ist eine Verlängerung der S-Phase bei Patienten mit seborrhoischem Ekzem um das Doppelte, dagegen unterscheidet sich die Höhe des mittleren ^3H -Indexes fast nicht von der gesunden Kontrollgruppe.

R. BRUNNER et al (9) untersuchten bei 16 Patienten mit subakutem oder chronischem Kontaktekzem (12Männer, 4 Frauen) und bei 11 Patienten mit endogenem Ekzem (7 Männer, 4 Frauen) an krankhaft veränderter Haut die epidermale Zellproliferation histoautoradiographisch in einer in-vitro Studie mit folgenden Ergebnissen.

	Patienten mit Kontaktekzem	Patienten mit endogenem Ekzem
³ H-Index (%)	4,55 ± 2,4	5,5 ± 2,31
DNS-Synthesezeit (h)	11,4 ± 2,4	11,7 ± 3,68
Generationszeit (h)	244 ± 110	233 ± 83

Tab. 4 : Ergebniss von R. BRUNNER et al 1976

Zwischen beiden Ekzemformen bestand kein signifikanter Unterschied.

Zum Vergleich sind in Tab. 5 die Literaturangaben verschiedener Autoren bei gesunden Probanden zusammengefaßt.

^3H -Index (%)	ts (h)	tc (h)	Parameter	Autoren
—	5,6	142-166	in vitro	CHRISTOPHERS (1967)
5,8	10,3	184	in vitro	HEENEN et al (1973)
3,5	16,0	457	in vivo	WEINSTEIN et al (1973)
3,7	7,5	206	in vivo	ALLEGRA et al (1974)
2,4	7,2	283	in vitro	PULLMANN et al (1974)
2,93	6,2	—	in vitro	SHELL et al (1977/81)

Tab. 5 : Zellkinetische Parameter an der Haut gesunder Probanden. (Lit. bei 9)

Auch in der Untersuchung von BRUNNER et al (9) wurden die verschiedenen zellkinetischen Parameter der Epidermis von Patienten mit endogenem Ekzem und mit Kontaktekzem nur zu einem Zeitpunkt, nicht aber hinsichtlich tageszeitlicher Schwankungen untersucht.

Im Gegensatz zur Epidermis des Gesunden (46, 63, 75, 33) gibt es in der Literatur keine Untersuchungen auf diesem Gebiet für Patienten mit endogenem Ekzem.

Nachdem SHELL et al (72) einerseits beim Gesunden bei 4 von insgesamt 6 Versuchspersonen eine um 6 Stunden verschobene, negative Korrelation zwischen tagesrhythmischen Schwankungen des Serumcortisolspiegels (Anstieg zwischen 24 und 6 Uhr) und des epidermalen ^3H -Indexes (Abfall zwischen 6 und 12 Uhr) gefunden hat, und andererseits auch schon in einer Untersuchung über den Tagesverlauf vom Serumcortisol (75) bei Patienten mit endogenem Ekzem tageszeitliche Schwankungen desselben festgestellt hat, war es interessant in dieser Arbeit zu folgenden Fragen für den Patienten mit endogenem Ekzem Stellung zu nehmen:

1.3. Fragestellung

Im einzelnen soll in der vorliegenden Untersuchung zu folgenden Fragen Stellung genommen werden:

- 1.3.1. Unterscheidet sich der mittlere epidermale ^3H -Index bei Patienten mit endogenem Ekzem an klinisch unveränderter Haut, von dem mittleren ^3H -Index, der unter gleichen experimentellen Bedingungen bei gesunden Probanden festgestellt wurde?
- 1.3.2. Bestehen tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes in unveränderter Epidermis bei Patienten mit endogenem Ekzem?
- 1.3.3. Sofern tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes auftreten, läßt sich eine Korrelation zum simultan bestimmten Serumcortisolspiegel des gleichen Patienten nachweisen?

2. Material und Methodik

2.1. Zellkinetik und Proliferationssteuerung der Epidermis

Die Neubildung der Epidermis erfolgt durch mitotische Zellteilung. Zur Zellteilung der gesunden menschlichen Epidermis sind die Zellen des Stratum germinativum befähigt. Die menschliche Epidermis gehört zu den Wechselgeweben und befindet sich beim Gesunden im ständigen Gleichgewicht. Der an der Zelloberfläche konstant erfolgte Zellverlust wird durch ständige Zellneuproduktion im Stratum germinativum ausgeglichen. Da unter physiologischen Bedingungen die Zellneubildung dem Zellverlust, das heißt der Abstoßung als Hornschuppe entspricht, bleibt die Dicke der Epidermis konstant.

Nach HALPRIN (37) beträgt die cell transit time, d. h. die Zeitspanne von der Mitose bis zur Abstoßung als Hornschuppe, 40 bis 56 Tage.

Die turn-over time, d. h. die Zeit bis sich alle Zellen in einer epidermalen Schicht, in der gesamten Epidermisbreite, erneuert haben, wird mit 45 bis 75 Tagen angegeben (6, 37).

Während der Proliferation durchläuft die Epidermiszelle den Zellzyklus mit 4 gesetzmäßig aufeinanderfolgenden unterschiedlich langen Teilphasen (36, 43 und 77).

1. G₁-Phase: sie bestimmt hauptsächlich die Generationszeit (tc), d. h. die Zeitdauer zwischen 2 Zellteilungen . Durchschnittliche Dauer: zw. 144 und 457 Stunden (32).

2. DNS-Verdopplungsphase (S-Phase): während dieser Zeitspanne verdoppelt sich das gesamte Chromosomenmaterial. Sie wird im allgemeinen mit 6 bis 8 Stunden angegeben (1, 16, 61). Nach WEINSTEIN und FROST (82) soll sie 16 Stunden betragen.

3. G_2 -Phase: sie beträgt durchschnittlich 6 - 8 Stunden (83).

4. Mitosephase (M-Phase): sie dauert in der menschlichen Epidermis ca. 1 Stunde (83). Es ist die Phase, in der die neue Zelle aus der Mutterzelle entsteht.

Neben dem Anteil der Epidermiszellen, die an der Proliferation direkt teilnehmen, sich also im Zellzyklus befinden (growth-fraction, 56, 64, 65), und dem Anteil der Zellen, die ihre Teilungsfähigkeit endgültig verloren haben (non-growth-fraction) ist noch ein weiteres Subcompartment nichtproliferierender Zellen vorhanden, die sich in einer Ruhephase (G_0 -Phase) befinden. Aus dieser können sie bei Bedarf wieder einem Zellzyklus unter bestimmten Bedingungen (z. B. erhöhter Zellersatz) zugeführt werden (3, 15, 61, 69).

Die Aufrechterhaltung der Homöostase zwischen Zellneubildung und Zellverlust hängt von lokalen und übergeordneten Steuermechanismen ab. Nach dem Modell einer autonomen Wachstumsregulation wird die epidermale Proliferation unter Einbeziehung gewebsspezifischer proliferationshemmender Faktoren, sog. Chalone (10, 13, 20, 23, 26, 25, 27, 42, 44, 45) über einen innergeweblichen negativen Feedback-Mechanismus gesteuert (84).

Chalone bewirken sowohl eine Proliferationshemmung in der späten G_1 -Phase, etwa 9 bis 12 Stunden vor Beginn der DNS-Verdoppelungsphase (G_1 -Inhibitor, 42), als auch in der G_2 Phase unmittelbar vor Mitosebeginn (G_2 -Inhibitor, 23, 25, 27 und 45).

Verschiedene Hinweise belegen, daß die Aktivität der epidermalen Chalone durch Streßhormone (Adrenalin und Glucocorticoide) gesteigert wird (12, 31, 41 und 87). Die Wirkung von Chalonen bzw. Streßhormonen erfolgt intrazellulär über das epidermale cAMP- und cGMP-System (79), wobei beide zyklische Nukleotide als "second messenger" (66 und 78) eine wichtige Rolle im intrazellulären Stoffwechsel spielen (14, 45, 66, 54 und 71).

cAMP soll durch Hemmung oder Verlängerung der G_1 - und G_2 -Phase die epidermale Proliferation bremsen (24, 55, 80, 81 und 86) und gleichzeitig die Zellausdifferenzierung fördern, während cGMP als intrazellulärer Stimulator der Proliferation angesehen wird (5 und 80).

2.2. Prinzip und Anwendung der Histoautoradiographie bei zellkinetischen Untersuchungen

Die Autoradiographie beruht darauf, daß ein Gewebe nach Aufnahme und Speicherung eines Radioisotops zur Strahlenquelle wird, indem Energie durch Zerfall von instabilen Atomkernen freigesetzt und in einer photographischen Schicht durch Bildung von metallischem Silber die Lokalisation des Radioisotops im Gewebe möglich wird (2, 77). Bei der Untersuchung zellkinetischer Vorgänge erfolgt eine radioaktive Markierung der nukleären Desoxyribonucleinsäure (DNS). Von Vorteil hierbei ist, daß die nucleäre DNS in der intakten Zelle sehr stabil ist und nur einer extrem niedrigen Metabolisierung unterliegt. Durch Anwendung des Nucleosids Thymidin in radioaktiv markierter Form (^3H -Thymidin, ^{14}C -Thymidin), das selektiv während der DNS-Verdoppelungsphase in den Zellkern eingebaut wird, kann der Kern einer Zelle während der DNS-Verdoppelungsphase gekennzeichnet werden (72).

Verständlicherweise sind dieser Markierungsanwendung in-vivo, vor allem wegen der langen Halbwertszeiten der Markierungssubstanzen (^3H -Thymidin 12,3 Jahre; ^{14}C -Thymidin 57,30 Jahre) und der damit verbundenen Strahlenbelastung mit Gefahr einer Genschädigung beim Menschen enge Grenzen gesetzt.

Die in-vitro Methode, die in dieser Studie angewandt wird, bringt keine Strahlenbelastung für den Organismus, da die Markierung nach der Gewebsentnahme erfolgt. Sie setzt jedoch voraus, daß die DNS-Synthese längere Zeit (Stunden) ungestört weiterläuft, damit die zellkinetischen Parameter den in-vivo gewonnenen Ergebnissen entsprechen.

In zahlreichen Versuchen wurde nachgewiesen, daß mit beiden Methoden gleichwertige und übereinstimmende Resultate erzielt werden können (38, 39, 40, 49, 50, 51). Allerdings ist die in-vitro Markierung weitgehend von bestimmten Versuchsbedingungen abhängig. Die Größe der Einbaurrate von radioaktiven DNS-Vorläufern ist in hohem Maße durch

1. die Inkubationstemperatur
2. den Sauerstoffpartialdruck im Gewebe und
3. die Inkubationsdauer festgelegt.

Alle drei Parameter wurden nach den Erfahrungen anderer Untersuchungen so gewählt, daß sie Ergebnisse liefern, die denen mit in-vivo Untersuchungen, gewonnenen Resultaten entsprechen.

Zur Charakterisierung der proliferativen Aktivität eines Gewebes wird meist der ^3H -Thymidin-Markierungsindex (^3H -Index) angegeben (47, 57, 77).

Der ^3H -Index gibt nach Markierung mit ^3H -Thymidin das im Histoautoradiogramm ermittelte Verhältnis von markierten Zellkernen zur Gesamtzellkernzahl einer Zellpopulation an.

Dem ^3H -Index ist gegenüber dem klassischen Mitose-index (Verhältnis von Mitosen zur Gesamtzellzahl einer Zellpopulation) aus mehreren Gründen der Vorzug zu geben:

Zum einen ist die sichere Erkennung von Mitosefiguren und somit ihre quantitative Erfassung oft schwierig, zum anderen ist die Dauer der DNS-Verdopplungsphase (t_s) im allgemeinen um den Faktor 8-10 länger als die Mitosedauer und damit die Anzahl der mit radioaktivem Thymidin markierten Zellkerne auch um etwa das 8-10 fache höher. So kann die Bestimmung des ^3H -Indexes genauer erfolgen, als die des Mitose-indexes.

Allerdings stellt der ^3H -Index nur ein grobes Maß der proliferativen Aktivität eines Gewebes dar, da seine Größe sowohl von der Länge der S-Phase (t_s), der Generationszeit (t_c) (2,4,52,57,77) und von der Größe der Wachstumsfraktion des untersuchten Gewebes abhängt: (86, 73)

$$^3\text{H-Index} = \frac{t_s}{t_c}$$

2.3. Prinzip und Anwendung des Radioimmunoassay (RIA)

Da in der vorliegenden Arbeit auch der Einfluß tageszeitlicher Schwankungen der Serumcortisolkonzentration auf die DNS-Syntheseaktivität untersucht wurde, soll kurz auf ihr Bestimmungsprinzip eingegangen werden.

Die quantitative Bestimmung von Hormonen und anderen höhermolekularen Substanzen in Körperflüssigkeiten und Gewebeextrakten ist durch die Anwendung des Radioimmunoassay auf relativ einfache Art mit großer Genauigkeit möglich.

Seine Grundlage bildet die Verknüpfung des Prinzips der Radioisotopenverdünnungsanalyse und der immunologischen Antigen-Antikörperreaktion. Durch die Verwendung radioaktiv markierter Verbindungen und immunologischer Reaktionen für die quantitative Analyse wird eine wesentlich größere Empfindlichkeit gegenüber älteren Bestimmungsmethoden erzielt, und niedrige Substanzkonzentrationen werden der quantitativen Analyse zugänglich.

Die zu bestimmende Substanz fungiert als unmarkiertes Antigen (Ag) und konkurriert mit der gleichen, jedoch radioaktiv markierten Verbindung, dem markierten Antigen (Ag*) um den gemeinsamen Antikörper (Ak) nach dem Prinzip der Isotopenverdünnung unter Bildung eines Antigen-Antikörperkomplexes (Ag Ak) (53, 88).

Dabei verhält sich die Menge radioaktiver Ag*Ak im Analysenansatz umgekehrt proportional zur Menge der nicht markierten und damit zur Menge der zu bestimmenden Substanz Ag. Nach Trennung der gebundenen Fraktion (F_1) von der ungebundenen (F_2) kann die gesuchte Konzentration durch Messung der Aktivität der Fraktion F_2 anhand einer Eichkurve bestimmt werden.

Die Anwendung des RIA für quantitative Analysen ist an mehrere Voraussetzungen gebunden. Die zu bestimmende Substanz muß ausreichende Antigenität besitzen oder in eine Verbindung überführbar sein, welche dieser Forderung genügt, beispielsweise als Hapten gekoppelt an ein Trägerprotein mit starker Wirksamkeit als Antigen. Weiterhin muß das Antigen in möglichst reiner Form als radioaktiv markierte und als unmarkierte Verbindung dargestellt werden können. Außerdem müssen die Herstellung eines spezifischen Antiserums und die Trennung von freiem und antikörpergebundenen markierten Antigen reproduzierbar gelingen. (weitere Einzelheiten bei 7, 13, 70, 88).

2.4. Versuchspersonen und Versuchsaufbau

2.4.1. Versuchspersonen

Die Untersuchungen wurden an 12 stationären männlichen Patienten mit endogenen Ekzem der Dermatologischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg durchgeführt. Das Alter der Probanden betrug zwischen 18 und 50 Jahren (Durchschnittsalter: 24 Jahre). Bei allen Patienten war mindestens bis zu 2 Monaten vor Untersuchungsbeginn keine externe oder interne Kortikoidbehandlung erfolgt.

2.4.2. Versuchsaufbau

Es handelt sich um eine gemischte Longitudinal/Transversalstudie, die in 4 Serien eingeteilt und jede Serie mit jeweils 3 Patienten besetzt wurde. Jede Serie erstreckt sich über einen Zeitraum von 12 Stunden. Innerhalb jeder Serie wurden 4 Entnahmezeitpunkte im Abstand von jeweils 4 Stunden und jede Serie zeitversetzt um 2 Stunden festgelegt, sodaß mit den 4 gebildeten Serien in einem Abstand von 2 Stunden ein Zeitraum von 26 Stunden abgedeckt werden konnte. In Tab. 6 sind die einzelnen Versuchsserien mit den Entnahmezeitpunkten dargestellt:

	Uhrzeit der Stanzbiopsieentnahmen											
Serie I	8		12		16		20					
Serie II		10		14		18		22				
Serie III							20		24		4	8
Serie IV								22		2		10

Tab. 6: Entnahmezeitpunkte der Stanzbiopsien in den einzelnen Versuchsserien.

Serie I			Serie II		
Versuchs- nummer	Versuchs- person	Alter (Jahre)	Versuchs- nummer	Versuchs- person	Alter (Jahre)
5	1	18	27	4	20
7	2	27	30	5	23
15	3	28	42	6	22
Serie III			Serie IV		
Versuchs- nummer	Versuchs- person	Alter (Jahre)	Versuchs- nummer	Versuchs- person	Alter (Jahre)
46'	7	18	47'	10	21
44	8	18	49	11	27
45	9	20	50	12	50

Tab. 7: Versuchspersonen mit Versuchsnummern und Alter (Jahre)
in den einzelnen Versuchsserien

2.4.3. Versuchsablauf

Die Untersuchungen wurden im Zeitraum März 1979 bis September 1981 durchgeführt. Bei allen Probanden wurden pro Zeitpunkt 2 Hautstanzbiopsien (Durchmesser 3 mm) an klinisch unveränderter Epidermis gleicher Lokalisation (li. Oberarminnenseite) und anschließend 2 Blutproben aus der rechten Kubitalvene entnommen. Vor der Gewebsentnahme erfolgte eine Lokalanästhesie mit Scandicain 1% ohne Vasokonstringenszusatz. Zwischen den zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten entnommenen Stanzbiopsien lag jeweils ein Abstand von 1 cm.

2.5. Technik der in-vitro Zellmarkierung

Sämtliche Biopsieproben kamen sofort nach der Entnahme in ein auf 32° C vorgewärmtes inaktives Medium (Eagle's Minimum Essential Medium). Zwischen Biopsieentnahme und Inkubationsbeginn im aktiven Medium lag durchschnittlich ein Zeitraum von 5 - 10 Minuten.

2 Biopsieproben wurden in je 5 ml Inkubationsmedium (Eagle's Minimum Essential Medium), dem als radioaktiver DNS-Vorläufer ³H-Thymidin in einer Konzentration von 5µCi/ml (spez. Aktivität 6 Ci/nMol, Hersteller Amersham Buchler, Braunschweig) zugegeben war, bei 32° C für 60 Minuten unter atmosphärischem Sauerstoffdruck inkubiert.

Die Inkubationstemperatur von 32° C wurde deshalb gewählt, da die Einbaurrate von ³H-Thymidin bei 32°C am einheitlichsten ist. (21)

Sofort nach Inkubationsende wurden die Biopsieproben in Carnoy-Lösung (60% abs. Alkohol, 30% Chloroform, 10% Eisessig) fixiert.

Herstellung der Histoautoradiogramme

Nach Fixierung kamen die Proben in abs. Alkohol (2x2 Stunden), anschließend über Methylbenzoat (3x4-6 Stunden) in Benzol (2x15 Minuten) und in Benzol-Paraffin (30 Minuten) und wurden anschließend in Vakuum in Histoplast (Fa. Serva, Heidelberg) eingebettet. Nach Herstellung der Paraffinblöcke wurden senkrecht zur Epidermisoberfläche jeweils 4 µ dicke Serienschnitte, ca. 100-120 pro Block, hergestellt und auf mit Chrom-Gelatine bezogene Objektträger aufgebracht. Nach Entparaffinierung in Xylol und Einbringen der Objektträger über eine absteigende Alkoholreihe in Aqua dest. wurde in der Dunkelkammer der Film auf die Objektträger aufgezogen. Zur Anwendung kam der Stripping-Film AR 10 (Kodak), dessen Vorteil für quantitative autoradiographische Arbeiten in der konstanten Dicke der Photoemulsionsschicht besteht (5 µm $\pm$ 0,5 µm Photoemulsion auf 10 µm dicken Gelatine-Trägersubstanz). Mit einer Kristallgröße von durchschnittlich 0,2 µm besitzt der Film eine ausreichende Empfindlichkeit und hohes Auflösungsvermögen (1 - 5 µm, abhängig von der Art der Strahlung). Die Expositionszeit der Präparate betrug 10 Tage bei + 4° C. Abschließend wurden die Histoautoradiogramme entwickelt, mit saurem Hämalaun nach MAYER differenziert, in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Eukitt eingebettet.

2.6. Auswertung der Histoautoradiogramme und untersuchte zellkinetische Parameter

In jeder Stanzbiopsie wurde anhand der Histoautoradiogramme an durchschnittlich 2.000 Basalzellen (1.949 als Minimum und 2.556 als Maximum) der Anteil der markierten Zellkerne in der Basalzellschicht und suprabasal bestimmt. Die Auswertung erfolgte vom Rand des Gewebs-

blockes nur bis zu einer Gewebstiefe von 150 μm , um eine bei der Inkubation eintretende Abnahme der Markierung in tieferen Gewebsschichten zu berücksichtigen (62, 65). Die sichere Zählung der markierten Zellkerne sowie der unmarkierten Basalzellen wurde dadurch ermöglicht, daß über ein Mikroprojektionsgerät (Zeiss) die einzelnen Serienschnitte bei 500-facher Vergrößerung auf Papier projiziert und dann jede einzelne Basalzelle (markiert und unmarkiert) sowie jede markierte Suprabasalzelle gezeichnet wurde. Um zu vermeiden, daß eine doppelte Zählung der gleichen Zellen erfolgte, wurde nur jeder dritte Schnitt ausgewertet.

Es wurden folgende zellkinetische Parameter bestimmt:

1. Verhältnis markierter Zellen (basal und suprabasal) zur Gesamtzahl der ausgezählten Basalzellen (markierte und unmarkierte Basalzellen).

Daraus errechnet sich der ^3H -Index gesamt (%) wie folgt:

$$^3\text{H}\text{-Index gesamt (\%)} = \frac{\text{markierte Zellen gesamt}}{\text{Basalzellen gesamt}} \times 100$$

In der vorliegenden Arbeit wurden zwar die markierten Basalzellen wie die markierten Suprabasalzellen ausgezählt und gezeichnet, aber kein gesonderter ^3H -Index (^3H -Index basal, ^3H -Index suprabasal) aus ihnen gebildet, nur der ^3H -Index gesamt (markierte Suprabasalzellen und markierte Basalzellen).

Da der Quotient zwischen markierten Suprabasalzellen und markierten Basalzellen, der bei der gleichen Versuchsperson gleichzeitig entnommenen Biopsieprobenpaare konstant ist (vgl. Tab. 8 - 11) wurde nur der ^3H -Index gesamt in den folgenden Abbildungen verwendet. Der Mittelwert des Quotienten aus markierten Suprabasalzellen und markierten Basalzellen beträgt $1,44 \pm 0,41$.

2. Die beiden Werte des ^3H -Indexes gesamt pro Versuchsperson und Versuchszeitpunkt wurden addiert und daraus der Mittelwert gebildet.

2.7. Methodik bei der Auswertung der Einzelergebnisse

In der vorliegenden Studie stand auf Grund der Versuchsbedingungen nur eine relativ geringe Anzahl von Testpersonen innerhalb der vorgegebenen Zeit zur Verfügung. Deshalb und auch wegen der großen inter- und intraindividuellen Unterschiede der einzelnen Untersuchungsergebnisse, wurde von einer statistischen Auswertung der Ergebnisse abgesehen und statt dessen eine Description der gewonnenen Daten auf Grund der graphischen Darstellungen vorgenommen, um die individuell unterschiedlichen Werte möglichst unverfälscht darstellen und beurteilen zu können. (Die Beratung hinsichtlich statistischer Fragen und Darstellung der Einzelergebnisse erfolgte durch Frau Dr. Dr. Guggenmoos - Holzmann des Instituts für medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Erlangen-Nürnberg).

3. Ergebnisse

3.1. ^3H -Index

Von den insgesamt 96 Hautproben der 12 Versuchspersonen konnten alle ausgewertet werden. Sie waren durchwegs gut markiert und gleichmäßig weit über 150 μm Tiefe hinaus, meist sogar über die gesamte Länge der Basalmembran, markiert.

Die Schnittrichtung war bei allen Präparaten annähernd senkrecht zur Epidermisoberfläche gelegen. Es fanden sich nirgends Hinweise auf einen vorzeitigen Zelltod während der Inkubation.

Die Markierungen waren eindeutig den betreffenden Zellen zuzuordnen. Auffällig war, daß häufig mehrere Basalzellen nebeneinander markiert waren und daß manchmal äußerst wenig markierte Zellen einer großen Zahl von unmarkierten gegenüberstanden.

Die Betrachtung der Einzelergebnisse zeigt, daß die zellkinetischen Parameter (^3H -Index gesamt, ^3H -Index basal, ^3H -Index suprabasal) eines Probenpaares nur gering voneinander abweichen. (siehe Tab. 8 - 11 im Anhang). Der ^3H -Index gesamt weicht zwischen beiden Proben zum gleichen Entnahmezeitpunkt im Mittelwert um 0,93% ab (mit dem kleinsten Wert um 0,01% bei VP 12 um 2 Uhr, außer VP 10 um 10 Uhr und VP 8 um 20 Uhr ohne Differenz; mit der größten Differenz von 3,28% bei VP 9 um 8 Uhr).

Die Abb. 1 zeigt die ermittelten absoluten Werte des mittleren ^3H -Indexes gesamt, getrennt für jeden einzelnen Probanden zu den jeweiligen Stanzbiopsieentnahmezeitpunkten und die Abb. 2 - 5 die Versuchspersonen nach Serien geordnet.

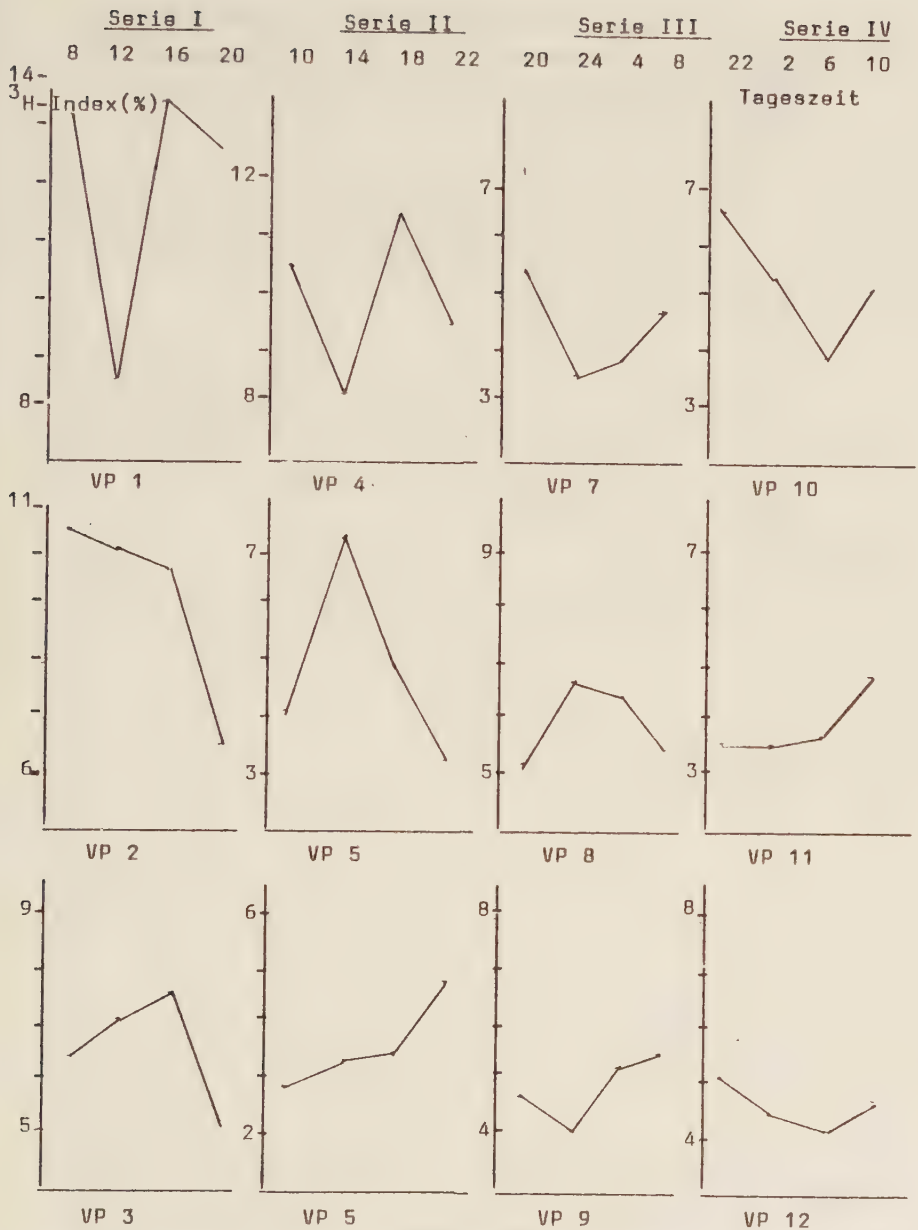


Abb. 1: Tageszeitliche Schwankungen des $^3\text{H-Index}$ für jede einzelne Versuchsperson

Aus der Übersichtsdarstellung des ^3H -Indexes gesamt für alle 12 Versuchspersonen ist zu entnehmen, daß jede Versuchsperson einen eigenen individuellen zeitlichen Verlauf für den ^3H -Index aufweist.

Dies gilt vor allem für

- a) das Niveau, auf dem sich die Werte jeder einzelnen Versuchsperson bewegen, wie auch für
- b) den individuellen tageszeitlichen Verlauf der einzelnen Werte. (siehe Abb. 1)

Zur besseren Übersicht des Verlaufes des ^3H -Indexes der Versuchspersonen innerhalb der jeweiligen Serie werden in Abb.2 - 5 die Verläufe der Versuchspersonen für den ^3H -Index gesamt pro Serie in einer Abbildung zusammengefaßt.

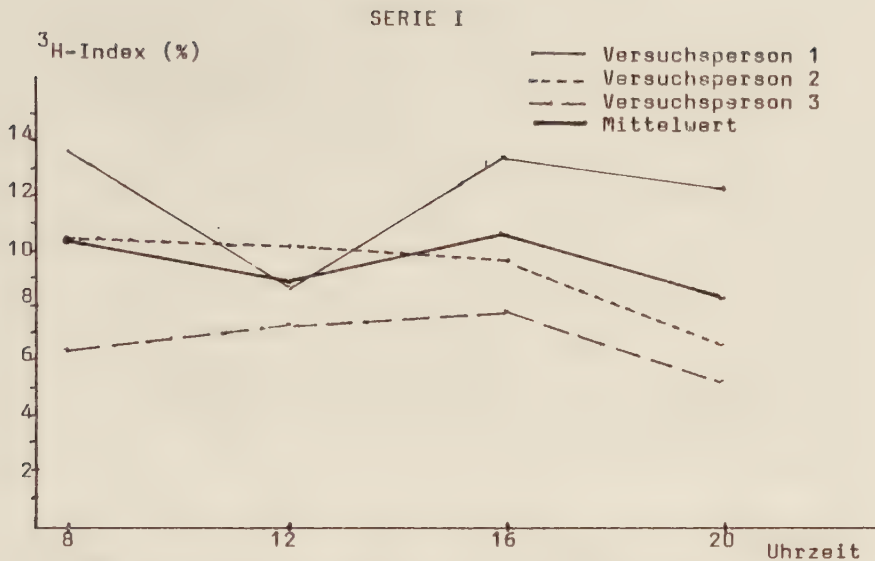


Abb. 2: Tageszeitliche Schwankungen des $^3\text{H-Indexes}$ der Versuchsperson 1, 2 u. 3 der Serie I

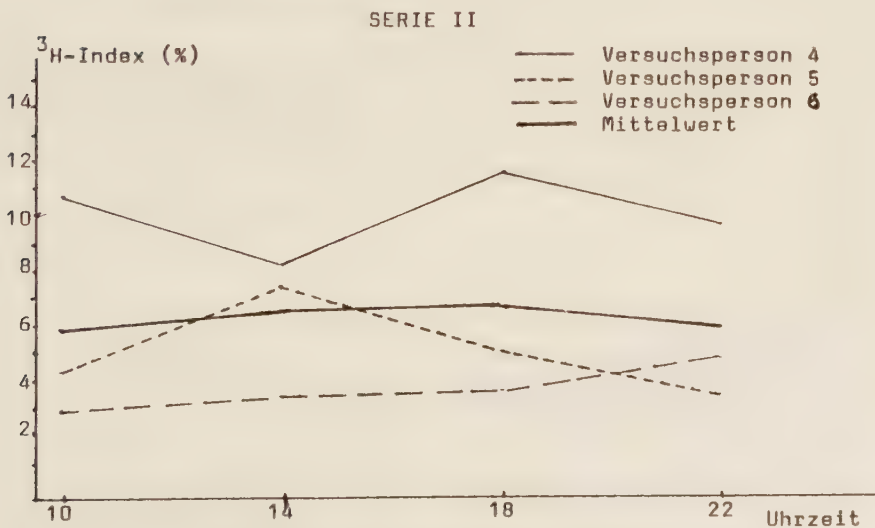


Abb. 3: Tageszeitliche Schwankungen des $^3\text{H-Indexes}$ der Versuchspersonen 4, 5 u. 6 der Serie II

SERIE III

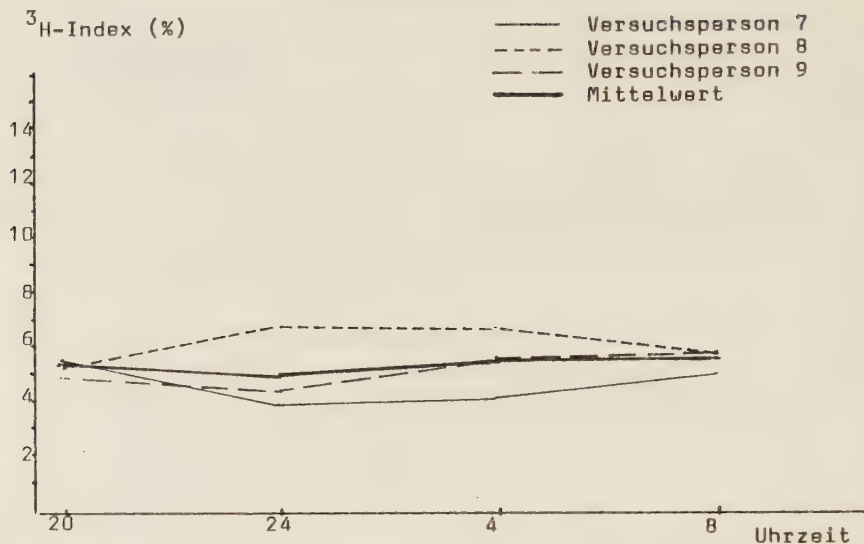


Abb. 4: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes der Versuchspersonen 7,8 u. 9 der Serie III

SERIE IV

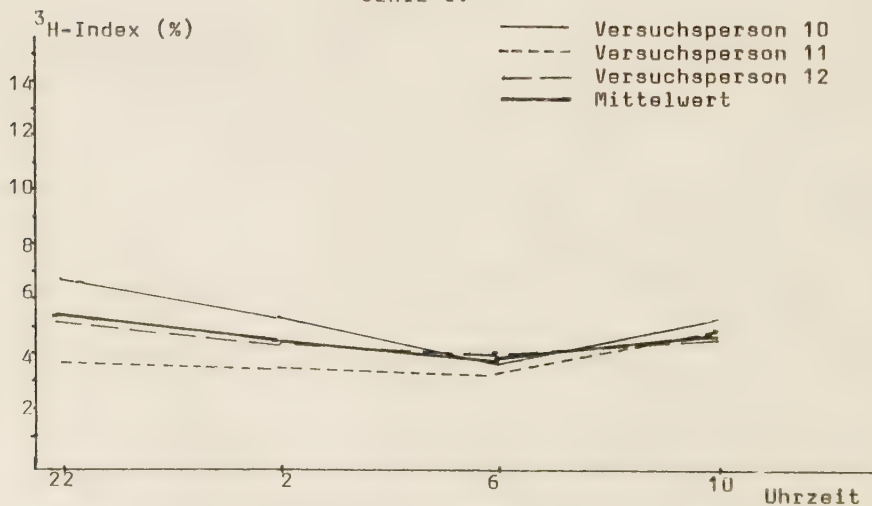


Abb. 5: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes der Versuchspersonen 10,11 u. 12 der Serie IV

Erläuterungen zu Abb. 2 - 5:

Abb. 2 zeigt deutliche tageszeitliche Schwankungen der einzelnen Probanden der Serie I. Die doch annähernd gleichsinnigen Kurvenverläufe (auf unterschiedlichem Niveau) werden durch den Minimalwert des Versuchsprobanden 1 um 12 Uhr gestört.

Abb. 3 läßt keine einheitlichen Kurvenverläufe der Versuchspersonen innerhalb der Serie II erkennen. Jedoch sind individuelle tageszeitliche Schwankungen der ^3H -Indices vor allem der Versuchspersonen 4 und 5 zu sehen, die sich in ihren Werten um 14 Uhr einander annähern (Versuchsperson 4 : 8,20 % ; Versuchsperson 5 : 7,45 %).

In Abb. 4 divergieren die Kurvenverläufe der 3 Versuchspersonen zu den einzelnen Entnahmezeitpunkten nur gering. Es treten Amplitudenschwankungen des ^3H -Indexes zwischen 6,7 % und 3,63 % auf.

Abb. 5 zeigt innerhalb der Versuchspersonen der Serie IV parallele Kurvenverläufe, die in ihren 6 Uhr- und 10 Uhr-Werten sehr nahe beieinander liegen, d. h. sich auf gleichem Niveau des ^3H -Indexes befinden.

In Abb. 6 - 9 ist jeweils der Mittelwert aller Versuchspersonen zu einem Entnahmezeitpunkt innerhalb einer Serie als lineare Verbindung dargestellt. Bei dieser Darstellungsart soll das besondere Augenmerk auf die Streubreite der Einzelwerte gerichtet werden. Der mittlere ^3H -Index gesamt ist in Absolutwerten (%) aufgetragen.

SERIE I

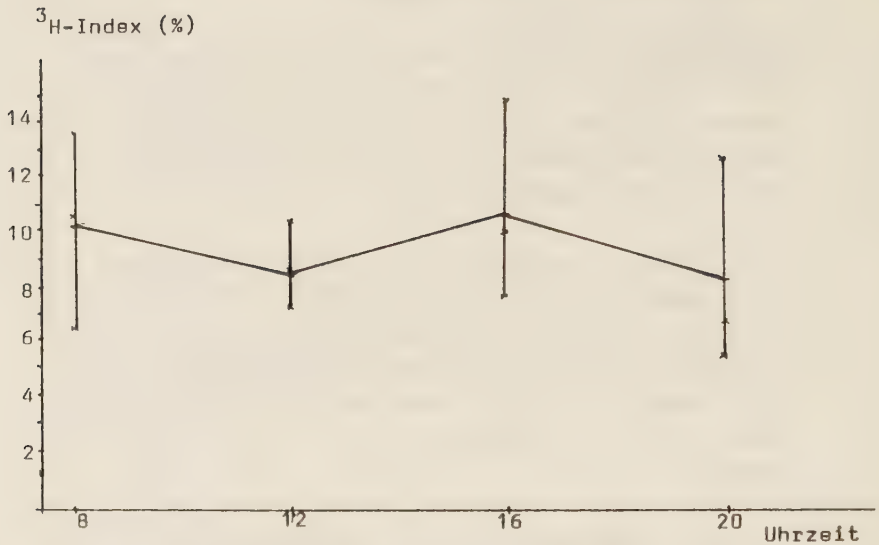


Abb. 6: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes als Mittelwert der Versuchspersonen der Serie I

SERIE II

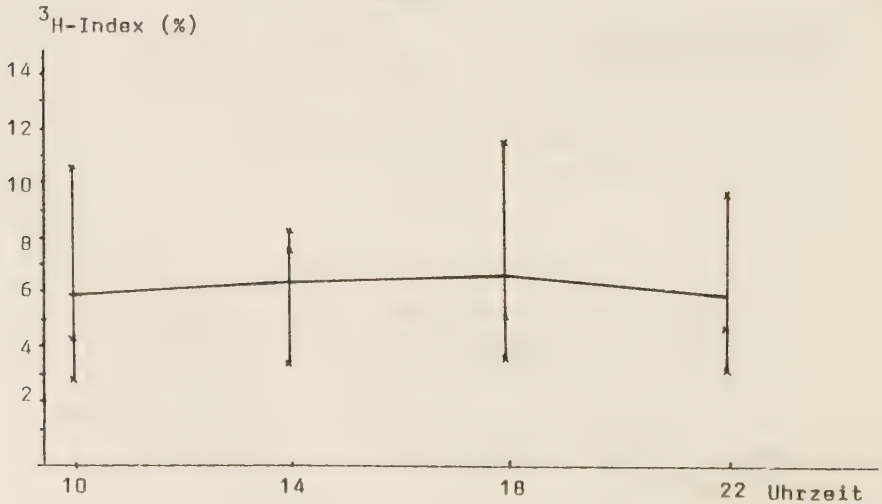


Abb. 7: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes als Mittelwert der Versuchspersonen der Serie II

SERIE III

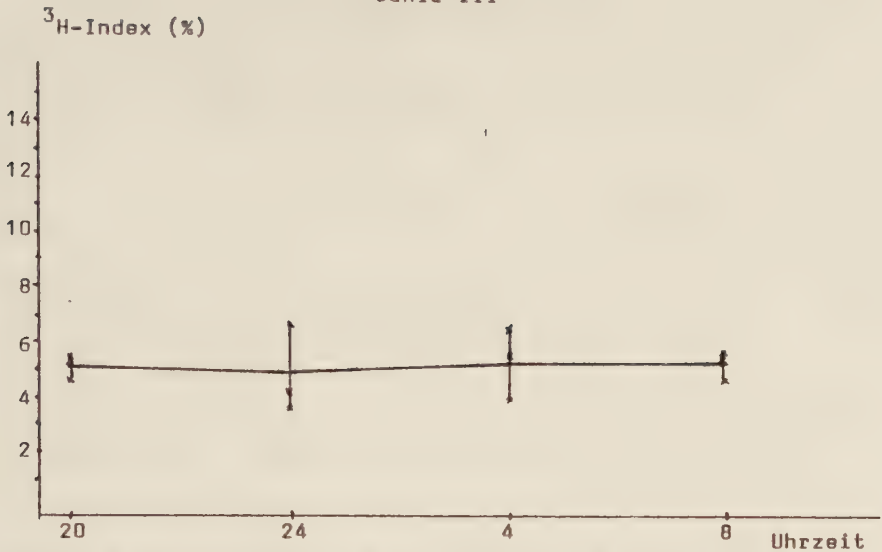


Abb. 8: Tageszeitliche Schwankungen des $^3\text{H-Indexes}$ als Mittelwert der Versuchspersonen der Serie III

SERIE IV

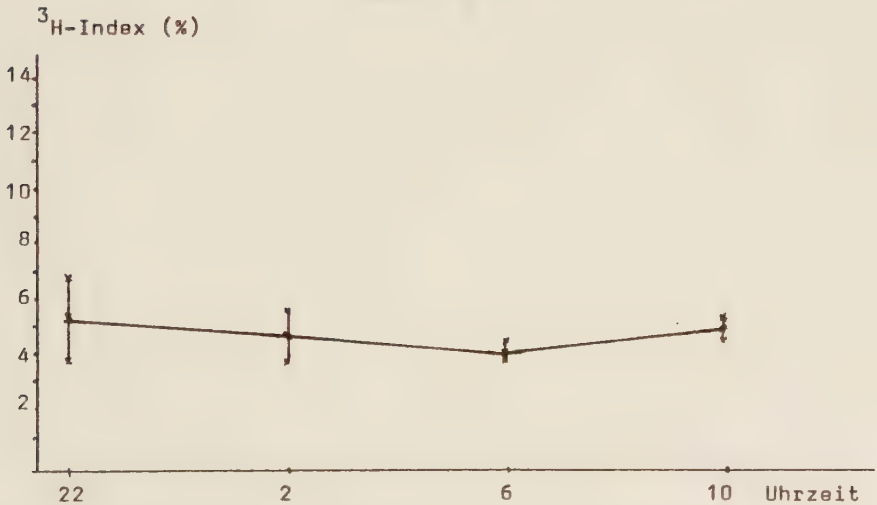


Abb. 9: Tageszeitliche Schwankungen des $^3\text{H-Indexes}$ als Mittelwert der Versuchspersonen der Serie IV

Aus dem Auftragsmodus des ^3H -Indexes der Abb. 6 - 9 ist zu erkennen, daß in allen 4 Serien der Mittelwert der Versuchspersonen innerhalb jeder Serie keinen großen tageszeitlichen Schwankungen unterliegt.

3.2. Serumcortisol

Simultan zu den Stanzbiopsien wurden bei jeder Versuchsperson 2 Venenblutproben zur radioimmunologischen Bestimmung des Serumcortisols entnommen.

Wie eingangs erwähnt soll eine etwaige Korrelation des Serumcortisols mit dem epidermalen ^3H -Index nachgewiesen werden.

Um diese Ergebnisse mit denen des ^3H -Indexes vergleichen zu können, werden in Abb. 10 die mittleren absoluten Cortisolwerte jedes einzelnen Probanden zum jeweiligen Entnahmezeitpunkt dargestellt.

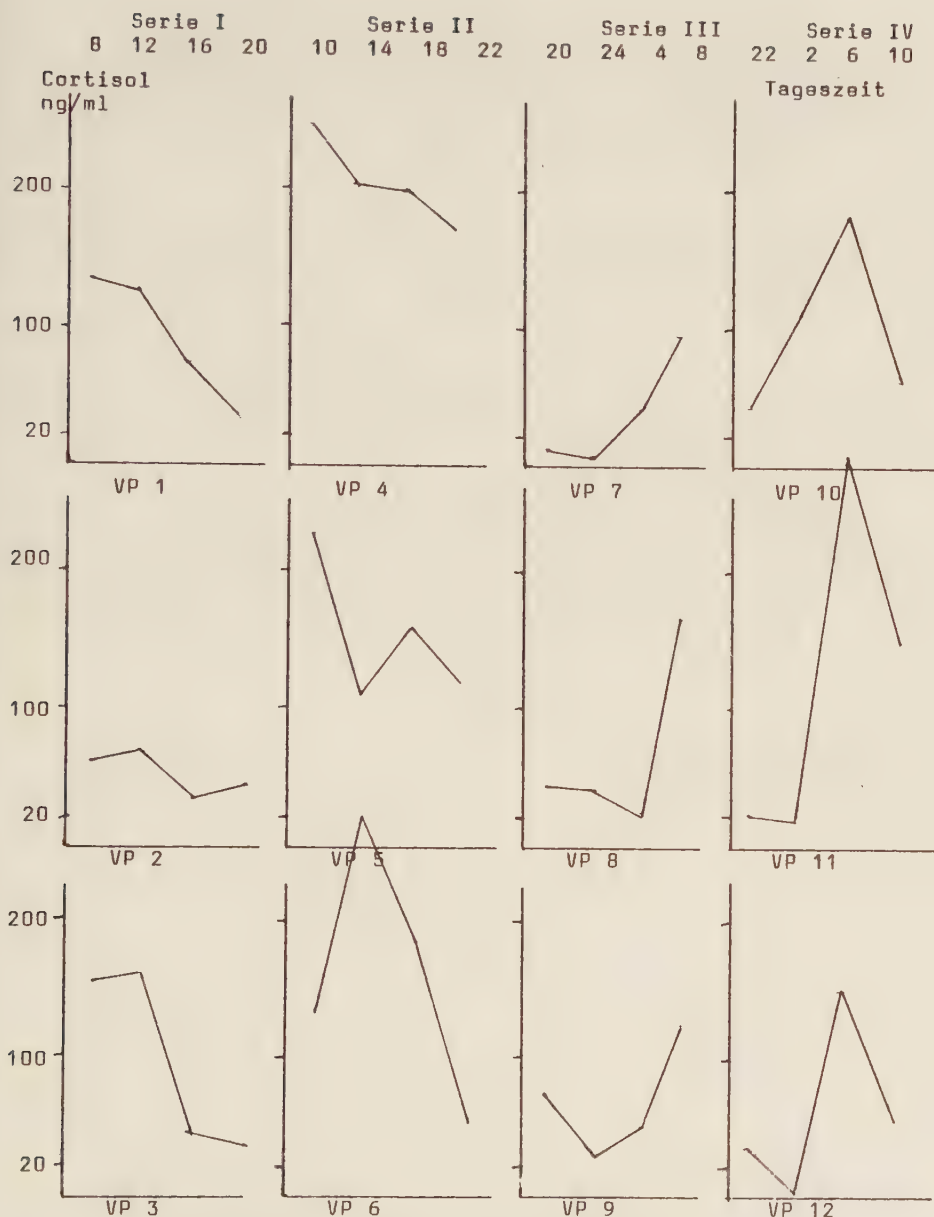


Abb. 10: Tageszeitliche Schwankungen des Serumcortisols bei allen 12 Versuchspersonen.

Aus Abb. 10 der Übersichtsdarstellung der Cortisol-mittelwerte eines jeden Probanden, sind vor allem individuelle tageszeitliche Schwankungen zu erkennen, die innerhalb der Serie III und Serie IV einheitliche Tendenzen aufweisen.

Innerhalb der Serie III sind parallele Kurvenverläufe aller 3 Versuchspersonen, mit steigender Tendenz ab 4 Uhr bemerkenswert.

Alle Versuchspersonen der Serie IV bilden um 6 Uhr ein prägnantes Maximum, um dann um 10 Uhr wieder abzufallen.

In Abb. 11 - 14 sind die Verläufe der Cortisol-mittelwerte für alle Versuchspersonen innerhalb einer Serie dargestellt.

SERIE I

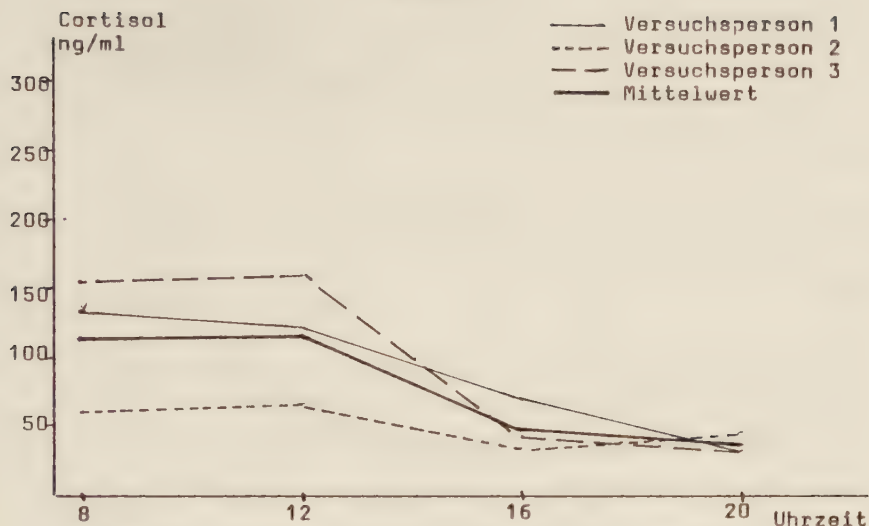


Abb. 11: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels der Versuchspersonen der Serie I

SERIE II

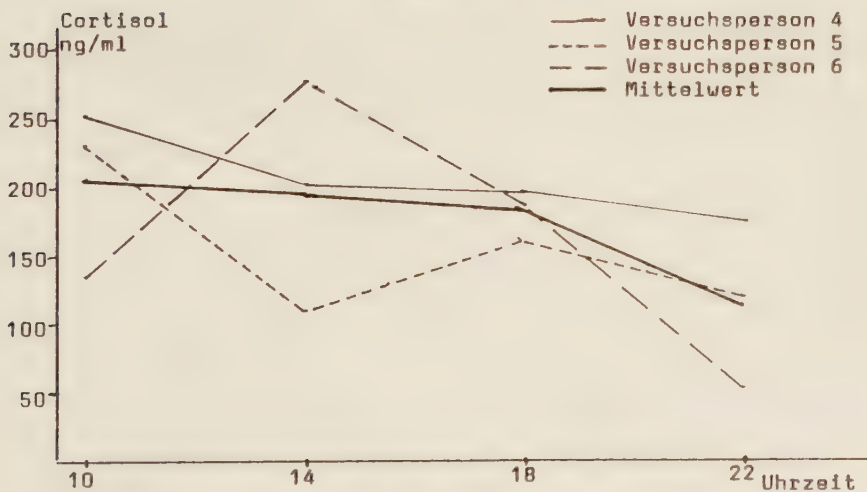


Abb. 12: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels der Versuchspersonen der Serie II

SERIE III

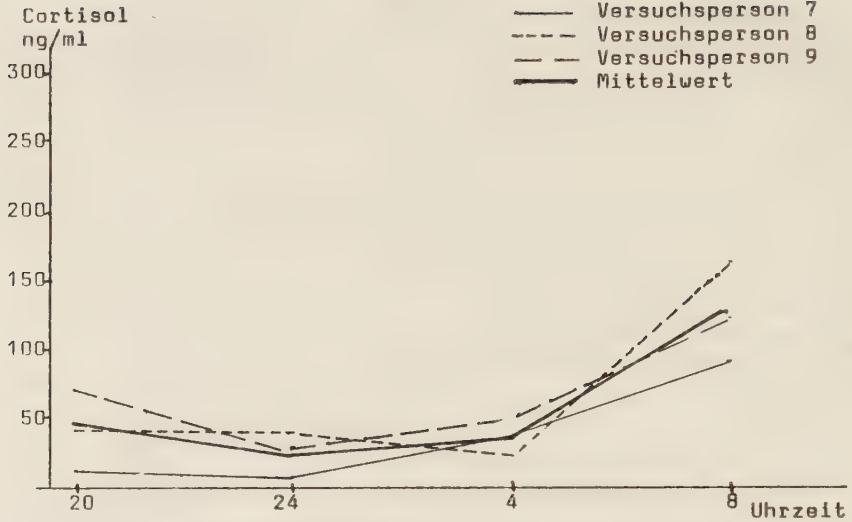


Abb. 13: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels der Versuchspersonen der Serie III

SERIE IV

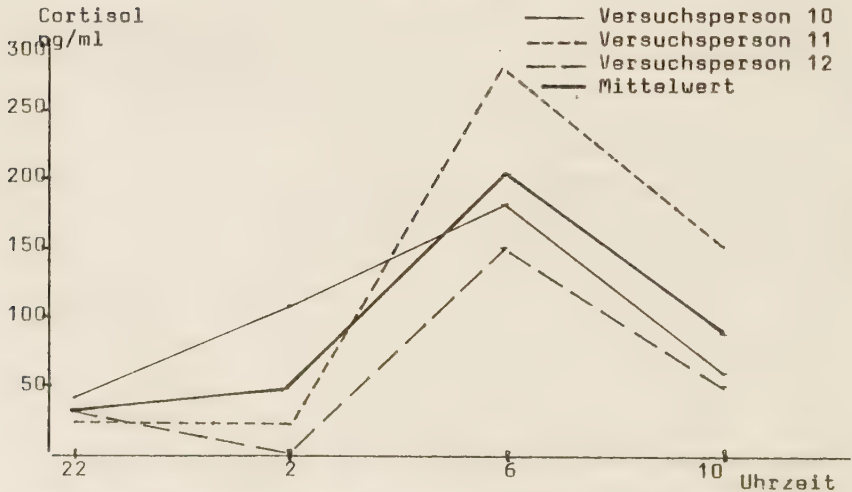


Abb. 14: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels der Versuchspersonen der Serie IV

Wie aus Abb. 11 (Serie I) zu ersehen ist, verlaufen die Kurven der Versuchspersonen weitgehend parallel und verraten mit Amplitudenschwankungen zwischen 36 bis 160 ng/ml deutliche tageszeitliche Schwankungen innerhalb der Entnahmezeitpunkte zwischen 8 Uhr und 20 Uhr.

Abb. 12 (Serie II) zeigt annähernd kongruente Kurvenverläufe der Versuchspersonen 4 und 5; Versuchsperson 6 bildet um 14 Uhr mit einem Wert von 279 ng/ml ein herausragendes Maximum.

Abb. 13 (Serie III) stellt einen harmonisch gleichsinnigen Kurvenverlauf aller Versuchspersonen dar, mit einheitlichen Maximalwerten aller 3 Versuchspersonen um 8 Uhr.

Aus Abb. 14 (Serie IV) ist ebenso wie aus Abb. 13 eine deutliche gemeinsame Rhythmizität aller Probanden zu erkennen, mit einem prägnanten gemeinsamen Maximum um 6 Uhr.

In Abb. 15 bis 18 werden die Cortisolmittelwerte mit ihrer Streubreite der einzelnen Versuchspersonen dargestellt.

SERIE I

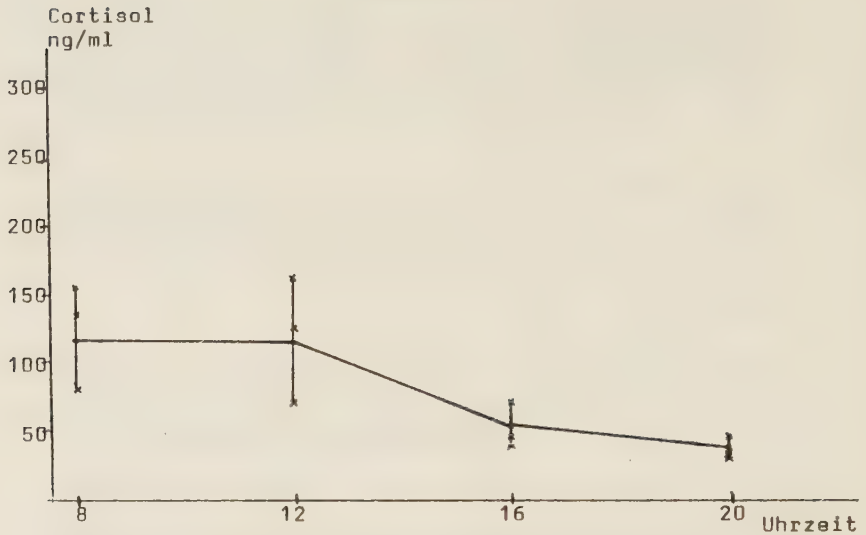


Abb. 15: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels im Mittelwert der Versuchspersonen der Serie I mit Streubreite der Einzelwerte

SERIE II

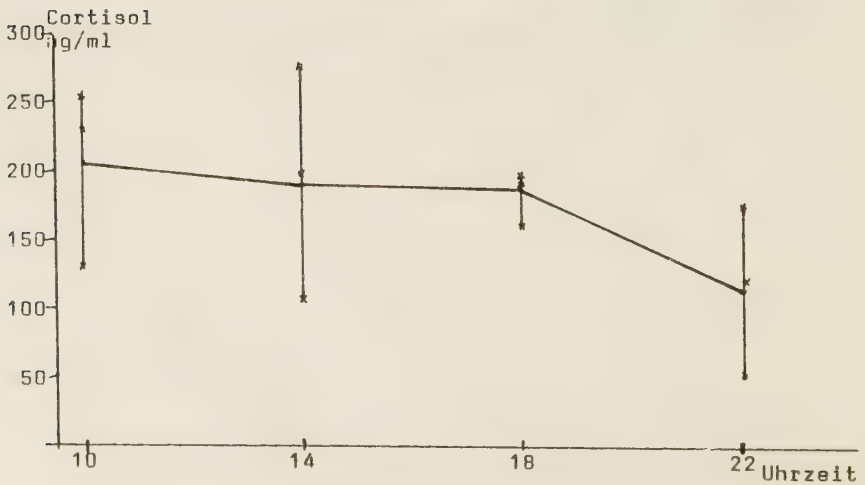


Abb. 16: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels im Mittelwert der Versuchspersonen der Serie II mit Streubreite der Einzelwerte

SERIE III

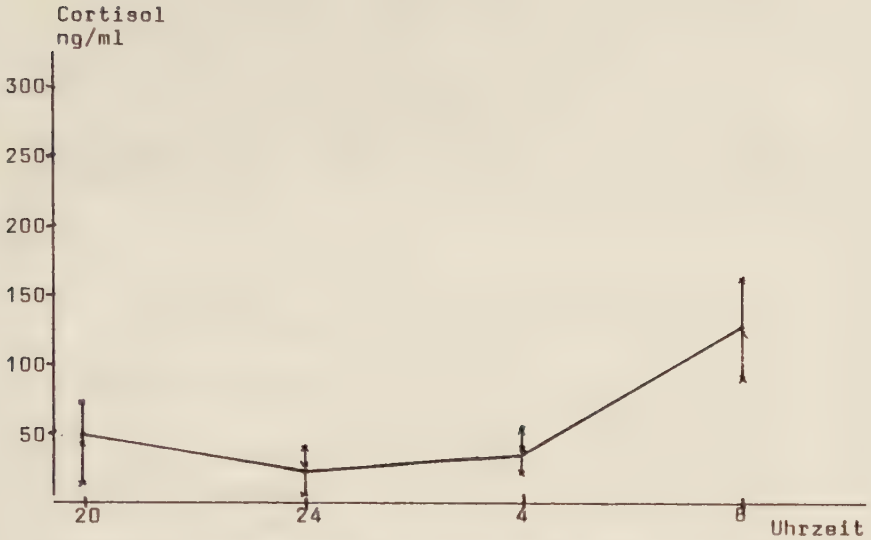


Abb. 17: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels im Mittelwert der Versuchspersonen der Serie III mit Streubreite der Einzelwerte

SERIE IV

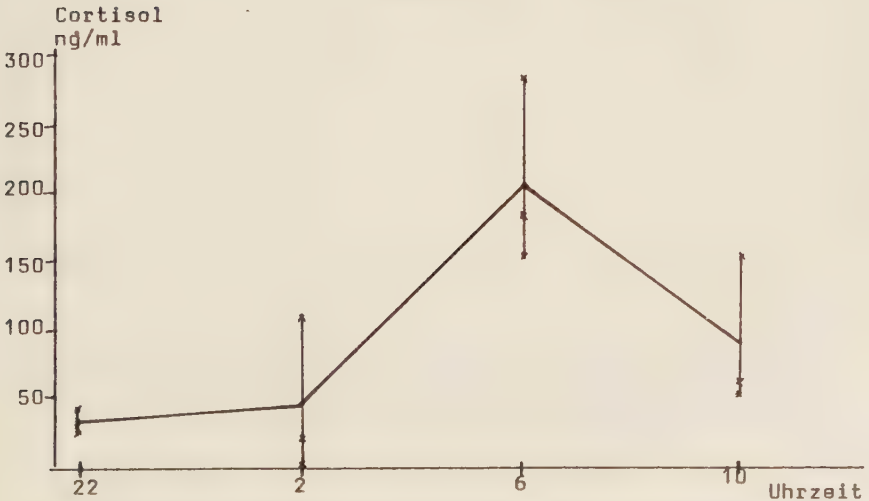


Abb. 18: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels im Mittelwert der Versuchspersonen der Serie IV mit Streubreite der Einzelwerte

Im Vergleich zum zeitlichen Verlauf des mittleren ^3H -Indexes (Abb. 6 - 9) ergeben sich aus der zeitlichen Darstellung der mittleren Cortisolwerte (Abb. 15 - 18) größere Amplitudenschwankungen der Cortisolmittelwerte der einzelnen Probanden innerhalb einer Serie und somit größere tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels als des ^3H -Indexes.

3.3. Korrelation zwischen Serumcortisol und ^3H -Index

Zur Darstellung des zeitlichen Verlaufes von Serumcortisol und ^3H -Index werden in Abb. 19 - 22 die Abweichungen der Mittelwerte vom Gesamtmittelwert der Versuchspersonen innerhalb der einzelnen Serien aufgetragen (siehe Tab. und im Anhang).

Zur besseren Übersicht sind die korrespondierenden Werte von Cortisol und ^3H -Index des gleichen Entnahmezeitpunktes um 2mm versetzt dargestellt.

SERIE I

— ^3H -Index
— Cortisol

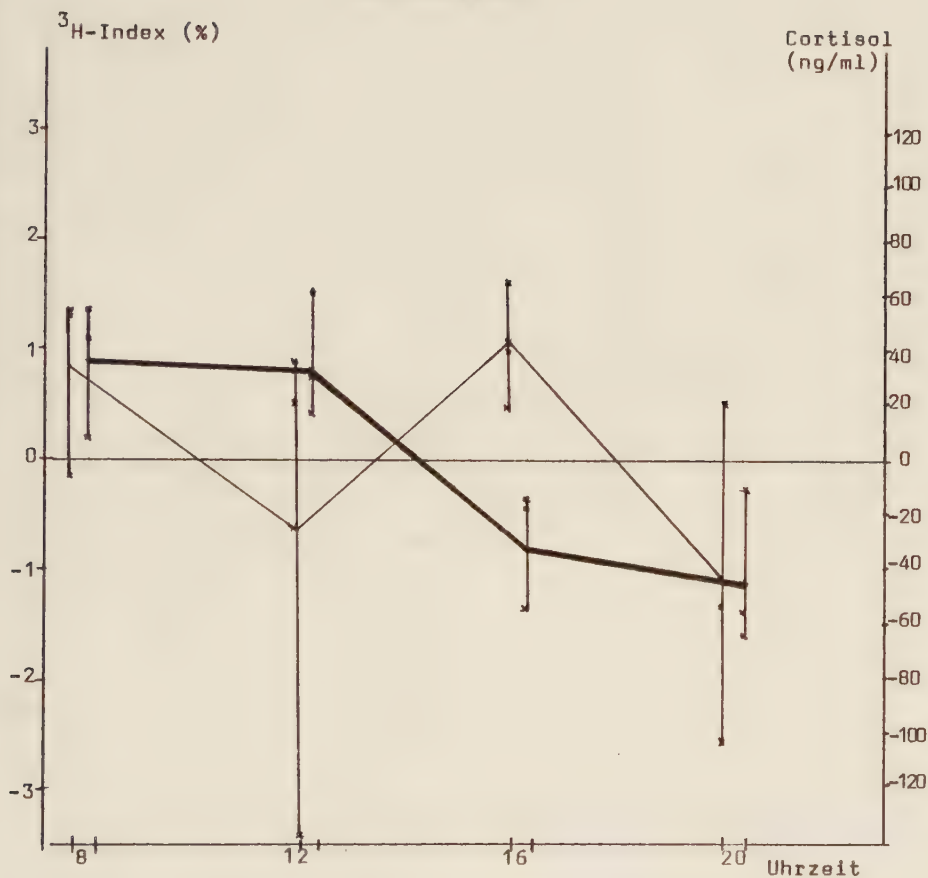


Abb. 19: Tageszeitliche Variation des Gesamtmittelwertes des ^3H -Indexes gesamt und Cortisol in Abweichung vom Mittelwert der Versuchspersonen der Serie I

SERIE II

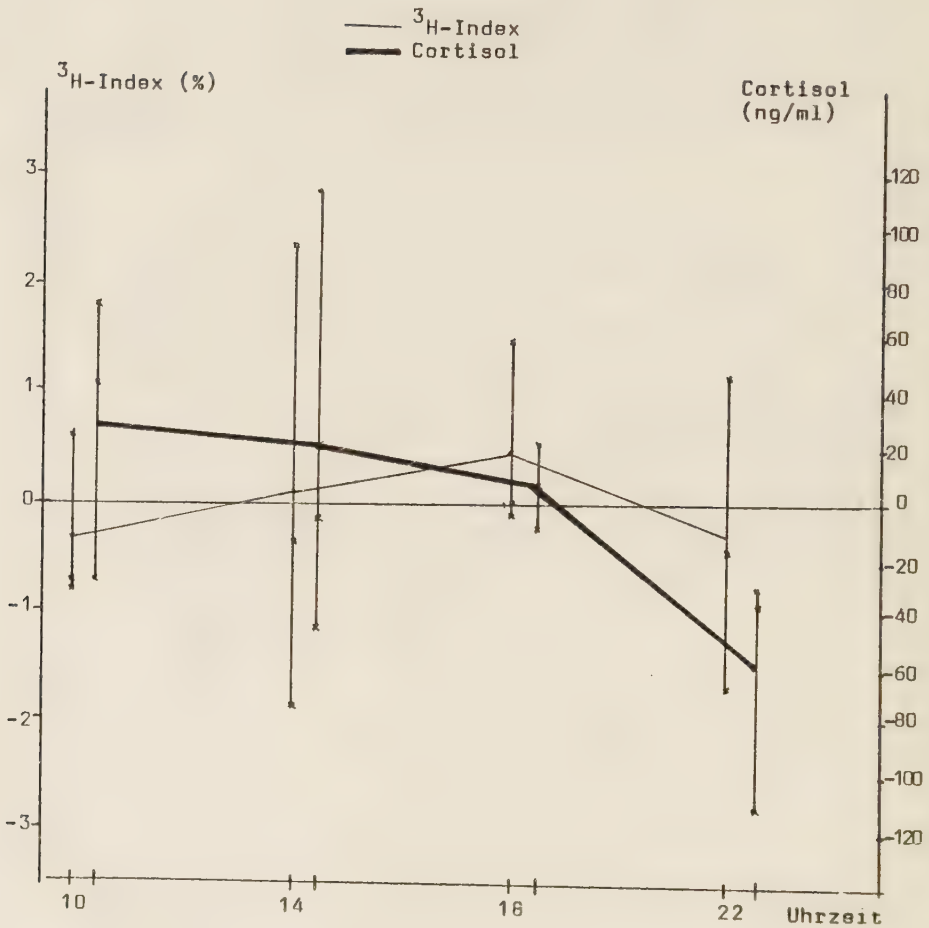


Abb. 20: Tageszeitliche Variation des Gesamtmittelwertes des ^3H -Index gesamt und Cortisol in Abweichung zum Mittelwert der Versuchspersonen der Serie II

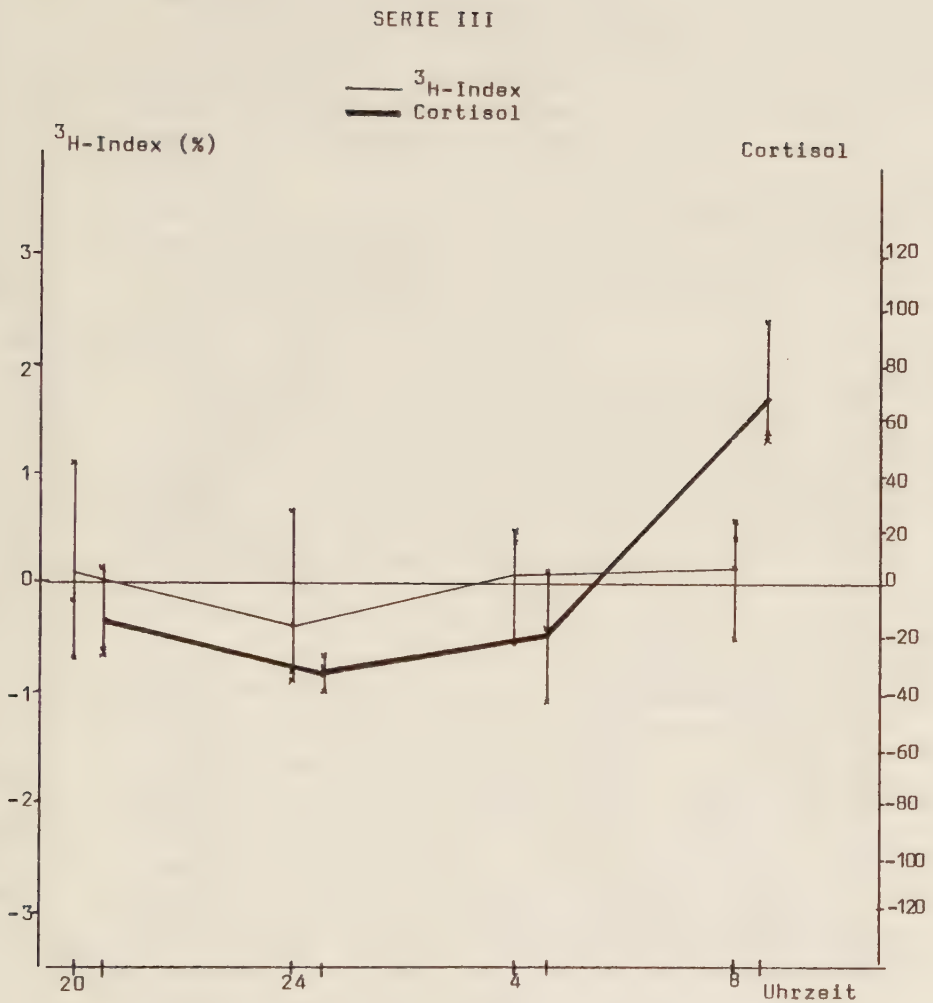


Abb. 21: Tageszeitliche Variation des Gesamtmittelwertes des ^3H -Indexes gesamt und Cortisol in Abweichung vom Mittelwert der Versuchspersonen der Serie III

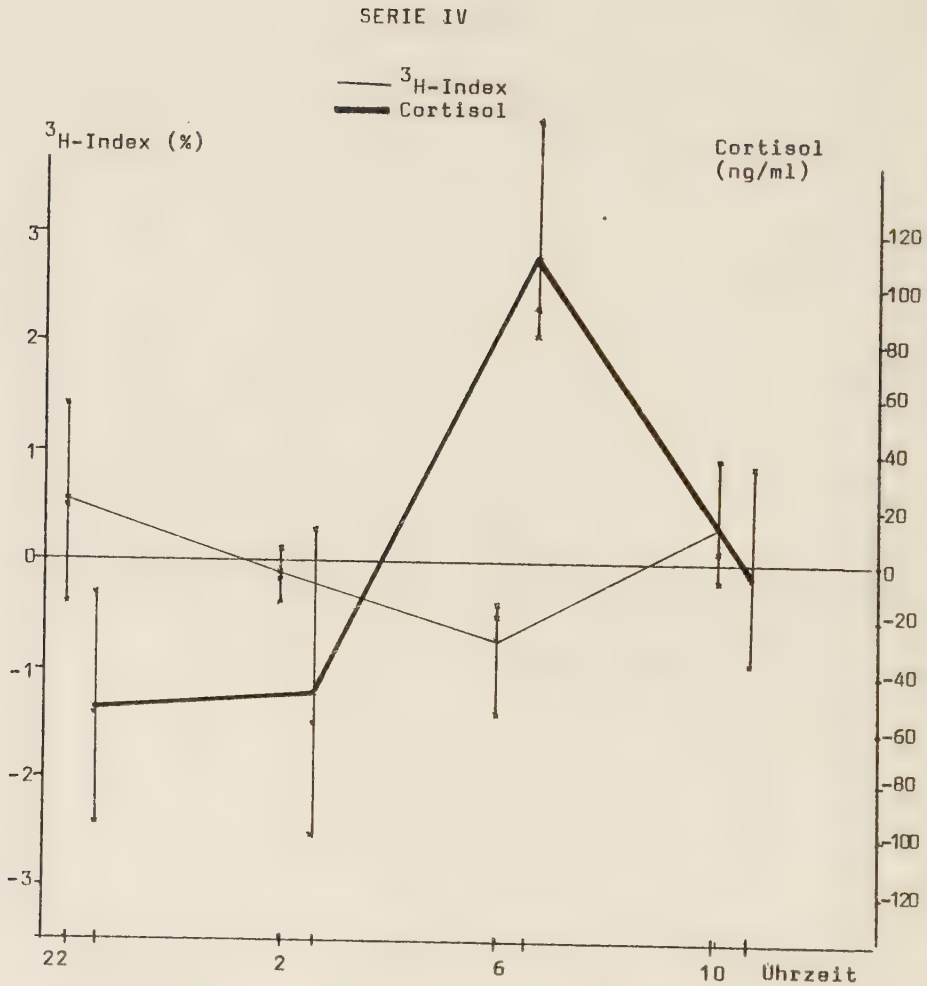


Abb. 22: Tageszeitliche Variation des Gesamtmittelwertes des ^3H -Indexes gesamt und Cortisol in Abweichung vom Mittelwert der Versuchspersonen der Serie IV

In Abb. 19 (Serie I) fällt besonders um 16 Uhr eine Gegenläufigkeit der Mittelwerte von Cortisol und ^3H -Index auf, bei der sich alle Einzelwerte des ^3H -Indexes über der Null-Linie befinden, die Cortisoleinzelwerte aller Probanden darunter. Um 12 Uhr besteht ebenfalls eine Gegenläufigkeit beider Mittelwerte.

Abb. 20 (Serie II) zeigt in etwa gleichsinnige Verläufe der beiden Mittelwerte, ebenso in Abb. 21 (Serie III), wo nur um 8 Uhr beide Mittelwerte, sowie Einzelwerte der einzelnen Versuchspersonen differieren.

In Abb. 22 (Serie IV) besteht eine prägnante Gegenläufigkeit mit einem Spitzenwert des Cortisols (Einzel- wie auch Mittelwert) um 6 Uhr und einem Minimalwert des ^3H -Indexes (Einzel- wie auch Mittelwert) zum gleichen Zeitpunkt. Ebenso ist eine Gegenläufigkeit beider Mittelwerte um 22 Uhr zu beobachten.

Um den zeitlichen Verlauf von ^3H -Index und Serumcortisol über den gesamten Versuchszeitraum verfolgen zu können, wurde in Abb. 23 der ^3H -Index in Mittelwerten (in Abweichung zum Mittelwert der einzelnen Versuchsperson) und in Abb. 24 die Cortisolmittelwerte über den gesamten Entnahmezeitraum von 26 Stunden aufgetragen.

Damit die einzelnen Serien noch klar zu unterscheiden sind, wurde jeweils zu Beginn einer Serie die Kurve unterbrochen. Aus Gründen der besseren Übersicht wurden ^3H -Index und Cortisol nicht in einer einzigen Abbildung, sondern getrennt dargestellt.

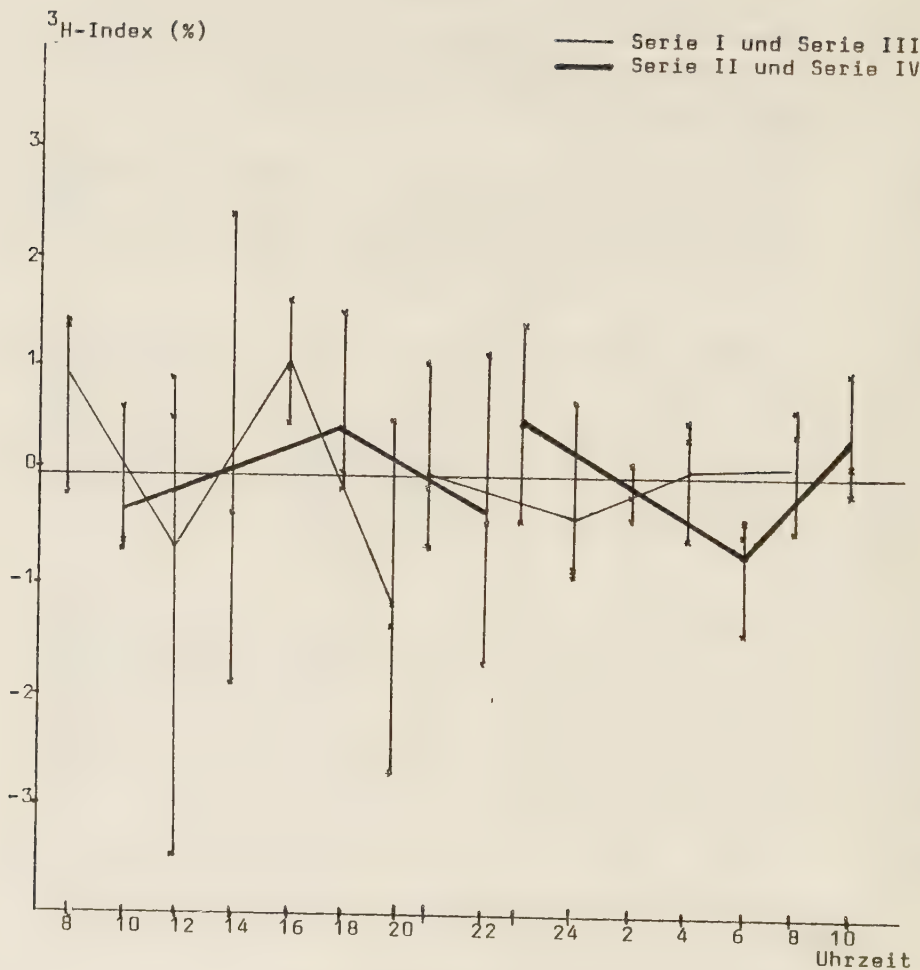


Abb. 23: Tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes gesamt in Abweichung vom Mittelwert aller 12 Versuchspersonen während des Versuchszeitraumes von 26 Stunden

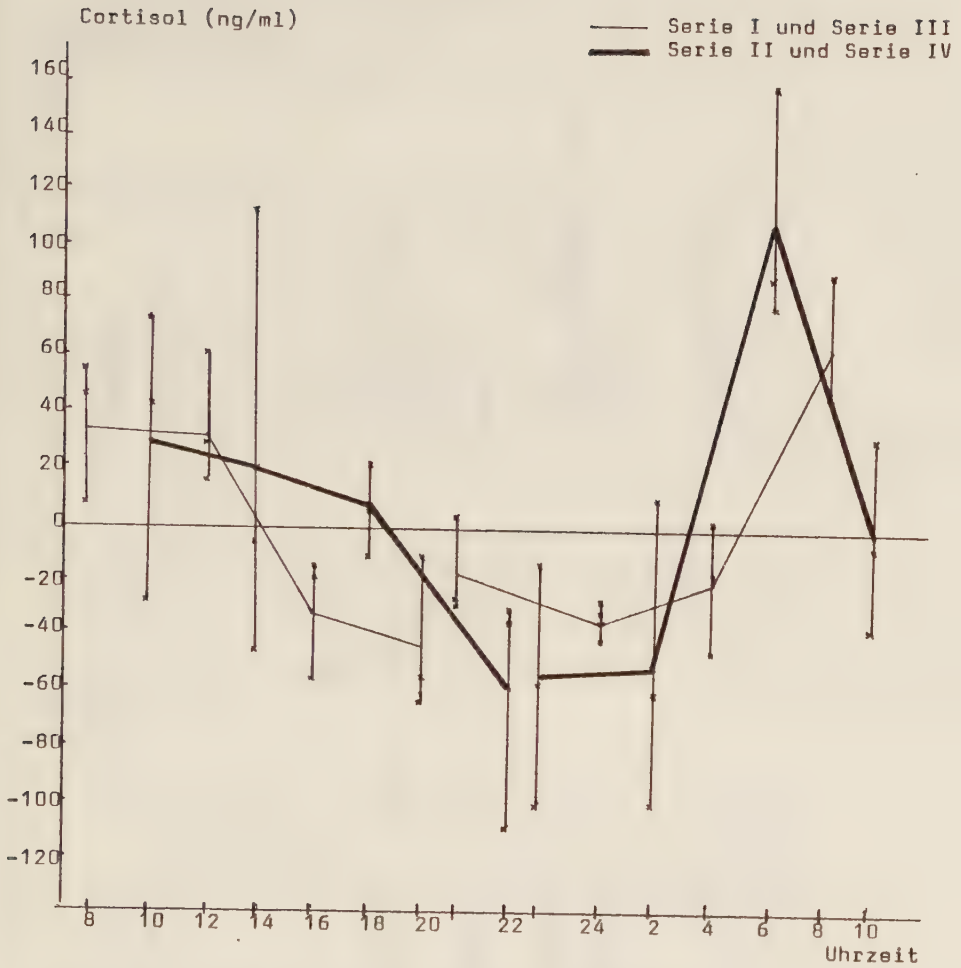


Abb. 24: Tageszeitliche Schwankungen des Serumcortisols in Abweichung vom Mittelwert aller 12 Versuchspersonen während des Versuchszeitraumes von 26 Stunden

Die Darstellung des mittleren ^3H -Indexes in Abb. 23 der Serien I - IV über den gesamten Versuchszeitraum zeigt zwar individuelle tageszeitliche Schwankungen, aber keinen einheitlichen Kurvenverlauf des Gesamtkollektivs.

Dagegen ist die Abbildung 24 mit den Cortisolwerten aller Versuchspersonen recht eindrucksvoll.

Eine einheitliche Tendenz der Gesamtamplitude ist klar zu erkennen, da sich ab 18 Uhr bis 4 Uhr die Mittelwerte aller Probanden für Cortisol unter der Nulllinie befinden (4 Probanden liegen mit einem Einzelwert geringfügig darüber). Prägnant ist das Maximum aller Werte um 6 Uhr und um 8 Uhr.

Aus der Gegenüberstellung beider Abbildungen (Abb. 23 und 24) kann insgesamt von keiner Gegenläufigkeit der Mittelwerte von Cortisol und ^3H -Index gesprochen werden. Lediglich zu bestimmten Zeitpunkten, um 12 Uhr, 16 Uhr und vor allem um 6 Uhr und um 8 Uhr besteht eine Gegenläufigkeit in der Darstellung beider Kurvenverläufe.

Um dies noch klarer herauszustellen, wird in Abb. 25 und Abb. 26 die Häufigkeitsverteilung der Maximal- und Minimalwerte für ^3H -Index und Cortisol untereinander dargestellt.

^3H -Index

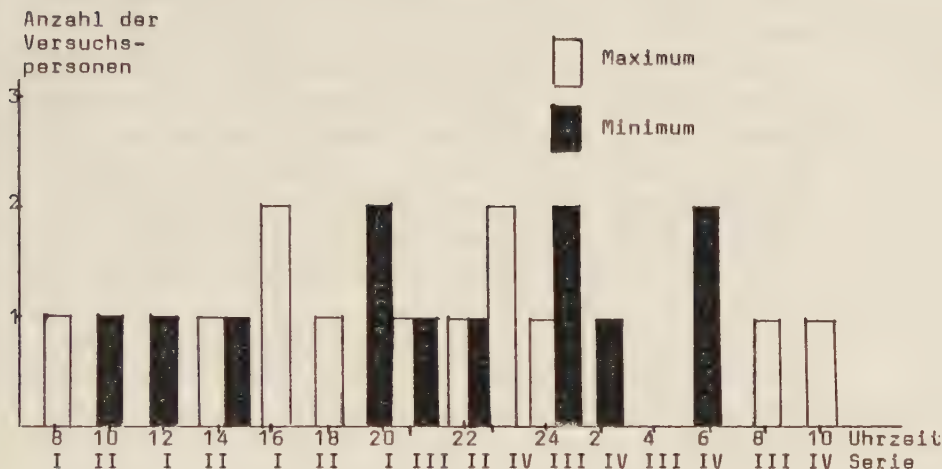


Abb. 25: Häufigkeitsverteilung der Maxima und Minima des ^3H -Indexes gesamt in Abweichung vom Mittelwert

Cortisol

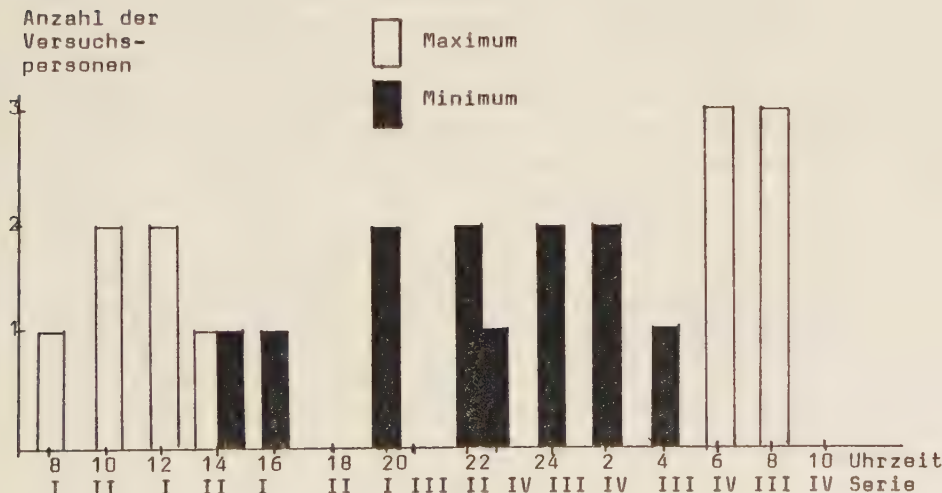


Abb. 26: Häufigkeitsverteilung der Maxima und Minima des Serum-cortisols in Abweichung vom Mittelwert aller Versuchspersonen

Wie aus Abb. 25 zu ersehen ist, sind für alle Testpersonen keine einheitlichen Werte in einem bestimmten Tagesrhythmus zu erkennen. So haben um 10 Uhr, 12 Uhr und 14 Uhr jeweils ein Proband ein Minimum ihres ^3H -Indexes. Beachtenswert ist vielleicht ein klares Maximum von zwei Probanden um 16 Uhr, ein deutliches Minimum von zwei Versuchspersonen um 20 Uhr und ein Maximum von wiederum zwei Testpersonen um 22 Uhr. Dann folgt eine Phase der Minima ab 24 Uhr bis einschließlich 6 Uhr. Um 8 Uhr und um 10 Uhr besitzen jeweils 2 Probanden ihre Maxima.

Im Gegensatz dazu zeigt Abb. 26 eine ganz einheitliche Phase der Minima zwischen 16 Uhr und 4 Uhr, in der kein Proband einen Maximalwert des Cortisols aufweist. Sehr beachtenswert sind die Zeitpunkte 6 Uhr und 8 Uhr mit Cortisolmaximalwerten aller Versuchspersonen. Um 10 Uhr und um 12 Uhr besitzen jeweils zwei von drei Probanden Maximalwerte. So ist also das Zeitintervall zwischen 6 Uhr und 12 Uhr mit reinen Maximalwerten gekennzeichnet. Lediglich um 14 Uhr besitzt ein Proband der Serie II ein Maximum und eine weitere Versuchsperson aus der gleichen Serie ein Minimum. Also kann in dieser Abbildung im Gegensatz zu Abbildung 25 der Auftragung des ^3H -Indexes von einer deutlichen, einheitlichen circadianen Rhythmik gesprochen werden, die zu gewissen Zeitpunkten direkt gegenläufig zur Epidermisproliferation verläuft.

Als weitere Möglichkeit, tageszeitliche Schwankungen des ^3H -Indexes mit denen des Cortisols in Korrelation darzustellen, wird in Abb. 27 für jede Versuchsperson ^3H -Index und Cortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert einer jeden Versuchsperson aufgetragen.

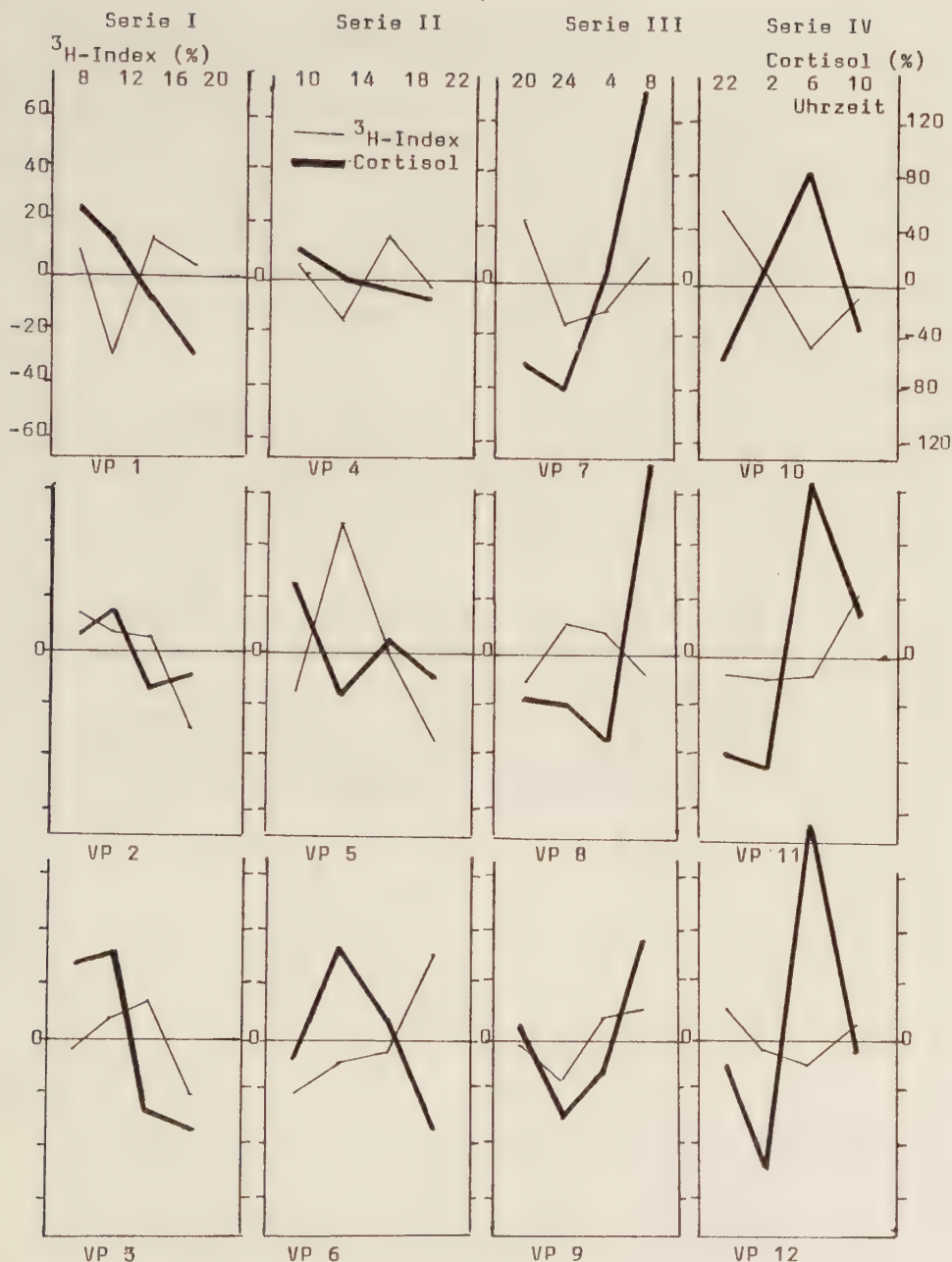


Abb. 27: Tageszeitliche Variation des ^3H -Indexes und des Cortisolspiegels in prozentualer Abweichung vom Mittelwert einer jeden Versuchsperson

Auch aus Abb. 27 sind gewisse Gegenläufigkeiten des Cortisols zum ^3H -Index bei einzelnen Versuchspersonen zu erkennen. Innerhalb der Versuchspersonen aus Serie I kann für Serumcortisol eine fallende Tendenz beobachtet werden. Die Verläufe des Cortisols innerhalb der Serie II weisen keine einheitliche Tendenz auf. In Serie III steigen die Cortisolwerte aller drei Versuchspersonen um 8 Uhr ganz deutlich über die Null-Linie an, um auch innerhalb der Serie IV parallele Kurvenverläufe zu ergeben.

Der ^3H -Index bildet für jede einzelne Versuchsperson einen individuellen tageszeitlichen Verlauf. Auch innerhalb einer Serie sind keine gemeinsamen Schwankungen zu den einzelnen Entnahmezeitpunkten zu erkennen.

In Abb. 28 wurde über den gesamten Untersuchungszeitraum von 26 Stunden ^3H -Index und Cortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert aufgetragen ohne Beachtung der einzelnen Serien. Aus den 20 Uhr-Werten der Serie I und III und den 22 Uhr-Werten der Serie II und IV wurde jeweils ein Mittelwert gebildet.



Abb. 28: Tageszeitliche Variation des ^3H -Indexes und des Cortisolspiegels in prozentualer Abweichung vom Mittelwert aller Versuchspersonen während des gesamten Versuchszeitraumes von 26 Stunden

Abb. 28 läßt die gleichen Aussagen wie die vergleichende Darstellung von Abb. 23 und 24 zu. Die Auftragung des ^3H -Indexes schwankt abwechselnd zwischen +10 % und -10 % um die Null-Linie.

Der Cortisolverlauf bleibt zwischen 18 Uhr und 4 Uhr, also in den Abend- und Nachtstunden unter der Null-Linie, um dann um 6 Uhr wie um 8 Uhr zu einem prägnanten Maximum anzusteigen.

Aus allen Darstellungsarten der Ergebnisse des ^3H -Indexes ergeben sich zwar individuelle tageszeitliche Schwankungen, es läßt sich aber keine einheitliche Tendenz für alle Versuchspersonen erkennen.

Eine andere Art der Darstellung wurde in Abb. 29 gewählt, in der nur jeweils der erste Abnahmewert eines jeden Probanden berücksichtigt und die 8 Uhr und 10 Uhr-Werte, sowie 20 Uhr und 22 Uhr-Werte zusammengefaßt und daraus der Mittelwert gebildet wurde. In Abb. 29 wurden diese Mittelwerte mit Standardabweichung als Säulendiagramme für den ^3H -Index und für Cortisol aufgetragen.



Abb. 29: Tageszeitliche Schwankungen des Cortisols und des $^3\text{H-Index}$ in den Morgenstunden (8 - 10 Uhr) und in den Abendstunden (20 - 22 Uhr) als Mittelwerte mit Standardabweichung

Aus Abb. 29 geht hervor, daß der $^3\text{H-Index}$, wie auch der Cortisolspiegel in den Abendstunden (20 - 22 Uhr) im Vergleich zu den Morgenstunden (8 - 10 Uhr) doch erheblich absinkt.

Ob man diesen Ergebnissen größere Bedeutung zumessen kann, müssen zukünftige Untersuchungen zeigen, die nach anderer Versuchsplanung, mit mehr Versuchspersonen, aber pro Patient nur mit der Belastung von einer Stanzbiopsieabnahme, durchgeführt werden.

Zusammenstellung der Ergebnisse

^3H -Index

Die Verläufe des ^3H -Indexes zeigen für jeden einzelnen Probanden individuelle tageszeitliche Schwankungen, die sich innerhalb der Serie I, III und IV annähernd synchron verhalten. Abb. 28, die Auftragung der ^3H -Index-Mittelwerte über den gesamten Untersuchungszeitraum zeigt keine herausragenden Maxima oder Minima, sondern ein ständiges Schwanken um die Nulllinie.

Cortisol

Abb. 10 - 14 zeigen individuelle tageszeitliche Schwankungen des Cortisolspiegels, die aber wie bei der Darstellung der ^3H -Index-Werte innerhalb der Serien I, III und IV kongruent verlaufen.

Eindrucksvoll ist in Abb. 24 der einheitliche Verlauf aller Cortisolmittelwerte über den gesamten Untersuchungszeitraum, mit gemeinsamen deutlichen Maxima aller Probanden um 6 Uhr und um 8 Uhr, sowie Minimalwerten in den Nachtstunden (22 - 2 Uhr) zu erkennen. Auch Abb. 26 zeigt diese einheitliche Verteilung der Minimalwerte für Cortisol in den Nachmittags-, Abend- und Nachtstunden von 14 Uhr bis 4 Uhr; und die Maximalwerte in den Morgen- und Mittagsstunden von 6 - 12 Uhr sehr deutlich.

Korrelation zwischen Serumcortisol und ^3H -Index

Ein gewisse negative Korrelation der beiden Größen kann aus Abb. 19 - 22 vermutet werden. Ebenso sind in Abb. 27 klare Gegenläufigkeiten des ^3H -Indexes zum Cortisol für einzelne Versuchspersonen zu erkennen, die sich aber in Abb. 28 über den ganzen Untersuchungszeitraum nicht bestätigen.

4. Diskussion

Untersuchungen zur Frage circadianer epidermaler Proliferationsschwankungen bei Menschen sind bisher nur vereinzelt durchgeführt worden. Die wenigen, zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse lassen noch keine allgemein gültigen Schlußfolgerungen zu. Die Gründe, warum beim Menschen im Gegensatz zum Tier das tageszeitliche Wachstumsverhalten der Epidermis bisher kaum eingehender untersucht wurde, liegen in den, zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden. Die beim Tier in-vivo angewandten Zellmarkierungen mit radioaktiven DNS-Vorläufern verbieten sich beim Menschen und so muß auf die in-vitro Markierungsmethode ausgewichen werden. Der Vergleich der in-vitro gewonnenen Ergebnisse ist aber nur unter ganz bestimmten Voraussetzungen (wie im Abschn. 2.2. erwähnt) mit den Daten unter natürlich gewonnenen Verhältnissen zulässig.

Weiterhin besteht auch grundsätzlich eine Beschränkung im Finden von Versuchspersonen, die alle Versuchsbedingungen erfüllen und außerdem bereit sind, die erheblichen Belastungen einer Gewebs- und Blutabnahme in vierstündigen Intervallen auf sich zu nehmen. Deswegen konnten die Abstände der Untersuchungszeitpunkte nicht enger gewählt und auch der insgesamt Untersuchungszeitraum nicht auf mehr als vier Abnahmen (jeweils 2 Gewebsabnahmen, also insgesamt 8 Biopsieabnahmen), d. h. einen Zeitraum von 12 Stunden ausgedehnt werden.

Um aber 26 Stunden abdecken zu können und Ergebnisse im Zweistundenabstand zu erhalten, mußte eine sogenannte Transversalstudie durchgeführt werden, die uns zwar viele Einzelwerte liefert, aber jeweils von einem anderen Probanden. Deshalb lassen sich die ermittelten Ergebnisse auch nicht als fortlaufende Kurve über den gesamten untersuchten Zeitraum darstellen, was mit Versuchstieren in-vivo machbar ist.

Da wir, um diese Ergebnisse zu erhalten, einen Zeitraum von Frühjahr 1979 bis September 1981 benötigten, spielen jahreszeitliche Schwankungen, individueller Tag-/Nacht-Rhythmus, sowie Hell-/Dunkel- Phasen oder eine negative Einstellung zur Untersuchungsstudie eine große Rolle und können das Proliferationsverhalten der Epidermis stark beeinflussen. Gerade die Erregung, in der Nacht zur Gewebsentnahme geweckt zu werden, geht wahrscheinlich bei den meisten Probanden mit einer Adrenalin ausschüttung einher, die sich wiederum in einer Mitosehemmung der Epidermis auswirken könnte (11).

Wie eben angeführt, gibt es eine Vielzahl exogener wie auch endogener Faktoren, die einen epidermalen Wachstumsrhythmus stark beeinflussen und verzerren können. Natürlich ist auch bei der Aufbereitung der gewonnenen Biopsieproben wie der Blutabnahmen zur Bestimmung der Hormonwerte Genauigkeit und Zuverlässigkeit aller technischen Hilfsmittel und Geräte notwendig.

Diese Schwierigkeiten hielten uns trotzdem nicht ab, mit dieser vorliegenden Untersuchung Aufschluß über das Proliferationsverhalten der Epidermis von Patienten mit endogenem Ekzem zu erhalten, außerdem einen etwaigen circadianen Wachstumsrhythmus festzustellen und diesen in Korrelation mit dem simultan bestimmten Serumcortisolgehalt zu setzen. Es wurde vielmehr versucht, die Versuchsbedingungen zu standardisieren und durch eine sinnvolle Auswahl der Probanden ungefähr gleiche Ausgangssituationen zu schaffen.

Durch die anfänglich genannten Probleme der Patientenbelastung konnte jede Serie mit nur drei Testpersonen besetzt werden. Die dadurch bedingte geringe Anzahl der Einzelwerte von jeweils einem Patienten, ebenso die große Streubreite der Werte zu den einzelnen Entnahmepunkten, ließ keinen Nachweis der epidermalen Proliferationsschwankungen mit statistischen Methoden weder im Einzelfall noch insgesamt für sinnvoll erscheinen.

Deshalb mußten wir uns in dieser Arbeit damit begnügen, allein durch die graphische Darstellung der Untersuchungsergebnisse und deren vergleichende Gegenüberstellungen zu einem aussagekräftigen Resultat zu kommen. Leider gelten Ergebnisse allein durch Beschreibungen von Kurvenverläufen ohne deren statistische Absicherung nur mit Vorbehalt. Es lassen sich jedoch Tendenzen aufzeigen.

Da es das Thema der vorliegenden Arbeit ist, die Höhe der epidermalen Proliferation (^3H -Index), ihre tageszeitlichen Schwankungen und ihre Korrelation mit dem Serumcortisolgehalt zu untersuchen, interessiert zuerst die Höhe des epidermalen ^3H -Indexes bei Patienten mit endogenem Ekzem.

^3H -Index

Der errechnete Mittelwert des durchschnittlichen ^3H -Indexes aller 12 Versuchspersonen aus insgesamt 96 Stanzbiopsien beträgt $6,34 \% \pm 2,82$. Dieser Wert korreliert gut mit den Ergebnissen von BRUNNER et al (9), die an 11 Patienten mit endogenem Ekzem einen mittleren ^3H -Index von $5,5 \% \pm 2,31 \%$ errechneten. Weitere Ergebnisse über zellkinetische Daten bei Patienten mit endogenem Ekzem sind in der Literatur bisher nicht mitgeteilt.

Im Vergleich mit dem epidermalen ^3H -Index gesunder Personen (Tab. 5), der durchschnittlich 3% beträgt, ist somit eine beträchtliche Erhöhung des ^3H -Indexes in der klinisch unveränderten Epidermis bei Patienten mit endogenem Ekzem um ungefähr das Doppelte zu beobachten.

Trotz einer im Einzelfall jeweils ausgeprägten tageszeitlichen Schwankung des ^3H -Indexes (vgl. Abb. 1) war dagegen eine eigentliche Rhythmik sowohl im einzelnen als auch im Gesamtkollektiv nicht nachweisbar. Allerdings geht aus Abb. 2, 4 und 5 hervor, daß die Kurvenverläufe der Versuchspersonen innerhalb der jeweiligen Serie annähernd synchron sind, jedoch zeigt die Gesamtübersicht des Mittelwertes aller Probanden über den gesamten Versuchszeitraum (vgl. Abb. 23) ein wechselndes nicht zeit-

abhängiges Ansteigen und Absinken des ^3H -Indexes ohne klare Tendenz. Ein Anstieg in den Morgenstunden (8 Uhr), Absinken in den Mittagsstunden, sowie erneuter Anstieg in den Nachmittagsstunden (Maximalwert um 16 Uhr) und dann ein Absinken des epidermalen ^3H -Indexes in den Abend- und Nachtstunden mit einem Minimalwert um 20 Uhr geht daraus hervor.

SHELL et al. (74 und Tab. 2) konnten einen circadianen Rhythmus des epidermalen ^3H -Indexes mit einem Maximum um 6 Uhr und einem Minimum um 18 Uhr beim Gesunden nachweisen. Daraus ergibt sich nach unseren Ergebnissen bei Patienten mit endogenem Ekzem eine zeitliche Verschiebung der Maximal- und Minimalwerte von 2 Stunden. (ohne Berücksichtigung des Maximums um 16 Uhr).

Mit Untersuchungen über die Mitoseaktivität in der Epidermis von Gesunden, die vor allem in den Nachtstunden ein Maximum der Mitoseaktivität und ein Minimum in den Morgenstunden beschreiben (Tab. 1), können unsere Ergebnisse nicht verglichen werden.

Cortisol

Über eine scharf definierte Tagesrhythmik des Cortisolspiegels liegen bereits zahlreiche Untersuchungen vor (19, 28, 35, 48, 54, 58, 59, 60, 85). Auch in der vorliegenden Studie fand sich ein klar ausgeprägter circadianer Rhythmus mit Minima in den späten Abend- und Nachtstunden zwischen 18 und 4 Uhr (Hauptminima um 24 Uhr) und Maxima am Morgen um 6 Uhr und 8 Uhr (Hauptmaximum um 6 Uhr) (vgl. Abb. 23). Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen von SHELL et al., die bei gesunden Probanden ebenfalls einen Cortisolmaximalwert um 6 Uhr und einen Minimalwert um 24 Uhr feststellten.

Auch sind diese Ergebnisse für die spätere Interpretation einer Korrelation zwischen ^3H -Index und Serumcortisol von Bedeutung, da Corticoide generell die Zellproliferation hemmen. (87).

Die Häufigkeitsverteilung der Cortisolmaxima und -minima (Abb. 26) ist sehr aufschlußreich, da bei allen Probanden einheitliche Phasen der Minimalwerte (zwischen 16 und 4 Uhr), sowie der Maximalwerte (zwischen 6 und 12 Uhr) vorliegen, also in keinem Fall ein entgegengesetzter Tagesverlauf des Serumcortisolspiegels nachweisbar war.

Korrelation zwischen ^3H -Index und Serumcortisol

Eine Korrelation zwischen den circadianen Schwankungen des Cortisolspiegels und dem epidermalen ^3H -Index bei Patienten mit endogenem Ekzem konnten die Ergebnisse dieser Arbeit nicht belegen. Ohne statistische Absicherung, nur mit reiner Description der gefundenen Werte, dürfte dies auch sehr schwierig sein.

Allerdings geht aus den Graphiken (Abb. 19, 21 und 22) hervor, daß zu bestimmten Zeitpunkten eine direkte negative Korrelation zwischen beiden Parametern besteht. So ist um 12 Uhr eine Gegenläufigkeit der Mittelwerte aller Probanden der Serie I, sowie um 16 Uhr ebenfalls eine direkte negative Korrelation aller Einzelwerte ersichtlich (Abb. 19).

Um 6 Uhr ist ein prägnantes entgegengesetztes Verhalten beider Größen, wie um 22 Uhr (Abb. 22) und um 8 Uhr (Abb. 21) Gegenläufigkeiten der Mittelwerte zu erkennen. Somit kann man aus diesen Abbildungen (Abb. 19 - 22) an jeweils 5 Entnahmezeitpunkten doch ein gewisses entgegengesetztes Verhalten beider Mittelwerte beobachten.

Da aber die Auftragung der Mittelwerte des ^3H -Indexes über den gesamten Versuchszeitraum (Abb. 23) keine einheitlichen tageszeitlichen Schwankungen zeigt, kann auch im Vergleich dazu die Auftragung der Mittelwerte des Serumcortisols (Abb. 24) keine Aussagen über eine Korrelation zulassen.

Unsere beschreibenden Auswertungen ergaben keinen Anhalt für eine zeitverschobene negative Korrelation des Serumcortisols zur epidermalen Proliferation (^3H -Index) um 6 Stunden, wie sie beim Gesunden statistisch nachgewiesen werden konnte (72).

Wenn auch in der vorliegenden Arbeit keine tageszeitliche Rhythmik des ^3H -Indexes bei Patienten mit endogenem Ekzem im einzelnen wie auch im Kollektiv nachgewiesen werden konnte und auch keine gesicherten Belege für eine negative Korrelation von ^3H -Index und Serumcortisol erbracht werden konnten, war es doch aufschlußreich, gerade an Patienten mit endogenem Ekzem diese Untersuchungen durchzuführen. Dies insbesondere deshalb, weil bis jetzt an Patienten mit dieser Ekzemform noch keine Studien mit dieser Zielsetzung vorliegen.

Ebenso zeigen Ergebnisse anderer Autoren (vgl. Tab.1), die mit Hilfe des Mitoseindexes an Gesunden meist nur mit täglich 2 Gewebsabnahmen die Proliferation der Epidermis untersuchten, zum Teil keine Übereinstimmungen der tageszeitlichen Maxima und Minima. Da aber der Mitoseindex, d. h. der Anteil der Mitosen in einer Zellpopulation ohne weitere Kenntnis von Phasenlängen des Zellzyklus wenig Aussagen über die Wachstumsdynamik eines Gewebes zuläßt, sollten Studien über circadiane Proliferationsrhythmen der Epidermis nur histoautoradiographisch durchgeführt werden.

Aber auch diese Untersuchungen an der Epidermis von gesunden Personen lieferten bisher keine einheitlichen Ergebnisse (vgl. Tab. 2).

So werden in Zukunft noch weitere Untersuchungen erforderlich sein, vielleicht mit anderem Versuchsansatz, um Aufschluß über gesicherte circadiane Rhythmen der Epidermisproliferation und deren Korrelation mit dem Serumcortisolspiegel gerade bei Patienten mit endogenem Ekzem zu erhalten.

5. Zusammenfassung

Die Tatsache, daß beim Menschen die meisten Funktionen eine endogene, meist circadiane Rhythmik aufweisen, findet bisher zwar noch wenig Beachtung, könnte aber künftig für die praktische Medizin (z. B. Beurteilung von Grenzwerten, Laborergebnissen, zeitadaptierte Therapie) von Bedeutung sein. Bisher ist kaum bekannt, daß auch die menschliche Epidermis circadian rhythmischen Proliferationsschwankungen unterliegt.

Unsere Untersuchungen galten der Frage, ob auch an der Epidermis von Patienten mit endogenem Ekzem unter einheitlichen Versuchsbedingungen eine circadiane Proliferationsrhythmik nachzuweisen ist und ob eine zeitliche Korrelation dieser rhythmischen Schwankungen zu den physiologischen Tagesschwankungen des Serumcortisolspiegels besteht.

In einer gemischten Longitudinal-/Transversalstudie wurden an 12 stationären männlichen Patienten mit endogenem Ekzem (Durchschnittsalter 24 Jahre) der Dermatologischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg in vierstündigem Abstand jeweils zwei Hautstanzbiopsien (Durchmesser 3 mm) an klinisch unveränderter Epidermis gleicher Lokalisation (linke Oberarminnenseite) und anschließend zwei Blutproben aus der rechten Kubitalvene abgenommen. Durch Einteilung der Patienten in 4 Serien, die zeitversetzt um zwei Stunden erfolgten, konnte ein Zeitraum von 26 Stunden in zweistündigem Abstand abgedeckt werden.

Der Cortisolspiegel wies typische circadiane Schwankungen während des gesamten Versuchszeitraumes mit Minima in den Abend- und Nachtstunden zwischen 18 Uhr und 4 Uhr (Hauptminima um 24 Uhr) und Maxima am Morgen (Hauptmaxima um 6 Uhr) auf (Abb. 24).

Trotz einer im Einzelfall jeweils ausgeprägten tageszeitlichen Proliferationsschwankung der Epidermis (mittlerer ³H-Thymidin-Markierungsindex) war dagegen eine eigentliche Rhythmik sowohl im einzelnen als auch im Gesamtkollektiv nicht nachweisbar.

Circadiane Maxima und Minima der Proliferationsaktivität der Keratinozyten und des Serumcortisolspiegels waren an 5 Entnahmezeitpunkten (6 Uhr, 8 Uhr, 12 Uhr, 16 Uhr und 22 Uhr) zueinander direkt negativ korreliert.

Die in dieser Studie gefundenen proliferationskinetischen und hormonanalytischen Daten korrelieren mit einem Teil der bisher in der Literatur veröffentlichten Ergebnissen mit anderen stimmen sie nicht überein. Trotzdem sprechen sie für deutliche individuelle tageszeitliche Schwankungen der epidermalen Proliferation, wie für eine ausgeprägte tagesrhythmische Periodizität des Serumcortisols bei Patienten mit endogenem Ekzem.

6. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. ALLEGRA, F.; PANFILIS, G. de: An in vivo method of studying the kinetics of cell proliferation in normal human epidermis. Acta derm.-vener. (Stockh.) 54, 87, 1974.
2. AMLACHER, E.: Autoradiographie in Histologie und Cytologie. Fischer Stuttgart. 1974.
3. BASERGA, R.: Multiplication and division in mammalian cells. Marcel Dekker, Inc. New-York, Basel, 1976.
4. BASERGA, R.; KISIELESKI; W. E.: Recent observations on cell proliferation and metabolism by histoautoradiography with tritiated compounds. Atompraxis 8, 386 - 392, 1962.
5. BAUER, R.: Cyclische Nucleotide und Epidermisproliferation. Z. Hautkrh. 52, 81, 1977.
6. BERGSTRESSER, P. R. ; TAYLOR, J. R.: Epidermal "turnover-time" a new examination. Brit. J. Derm. 96, 503, 1977.
7. BERSON, S. A. ; YALOW, R. S.: General principles of - radioimmunoassay. Clin. Chem. Acta 22, 51 - 69, 1968.
8. BRODERS, A. C. ; DUBLIN, W. B.: Rhythmicity of mitosis in the epidermis of human beings. Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. 14, 423, 1939.

9. BRUNNER, R.; PULLMANN, H. ; STEIGLEDER, G. K.: Zytokinetik epidermaler und dermaler Zellen beim allergisch bedingten Kontaktekzem und bei der Neurodermatitis constitutionalis (Endogenes Ekzem). Arch. Derm Res. 255, 297 - 304, 1976.
10. BULLOUGH, W. S.: The control of mitotic activity in adult mammalian tissues. Biol. Rev. 37, 307, 1962.
11. BULLOUGH, W. S. ; DEOL, J. U. R.: Über die Regulation von Gewebeersatz in der Haut. Hautarzt 22, 174, 1971.
12. BULLOUGH, W. S. ; LAURENCE, E. B.: Mitotic control by internal secretion: the role of the chalone - adrenalin complex. Exp. Cell. Res. 33, 176, 1964.
13. BULLOUGH, W. S.; RYTÖMAA, T.: Mitotic homeostasis Nature. 205, No. 4971, 573, 1965.
14. BUTCHER, R. W. ; ROBINSON, G. A.; HARDMAN, H. G. ; SUTHERLAND, E. W.: Demonstration of a tissue specific inhibitor of mitosis of human epidermal cells in vitro. J. invest. Derm. 59, 207, 1972.
15. CHRISTOPHERS, E.: Epidermale Regeneration: zellkinetische Aspekte. Arch. Derm. Forsch. 244, 21, 1972.
16. CHRISTOPHERS, E.; SCHAUMLÖFFEL, E.: Zur DNS-Synthesezeit in der menschlichen Epidermis. Arch. klin. exp. Derm. 228, 57, 1967.
17. COOPER, Z. K.: Mitotic rhythm in human epidermis J. invest. Derm. 2, 289, 1939.

18. COOPER, Z. K.; SCHIFF, A.: Mitotic rhythm in human epidermis. Proc. Soc. exp. Biol. 39, 323, 1938.
19. CONORY, R. T. W. L.; MILLS, J. N.: Human circadian rhythms. J. and A. Churchill London 1970.
20. DUELL, E.; KELSEY, W. H.; VOORHEES, J. J.: Epidermal chalone - past to present concept. J. invest. Derm. 65, 67, 1975.
21. EGMANN, W.: Histoautoradiographische in vitro Untersuchungen an der menschlichen Epidermis zur Frage tageszeitlicher Variationen der DNS-Synthesedauer. Diss. Erlangen.
22. EKINS, R. P.: Radioimmunoassay and saturation analysis: basic principles and theory. Brit. Medical. Bull. 30, 3 - 11, 1974.
23. ELGJO, K.: Epidermal cell proliferation during the first 24 hours after injection of an aqueous skin extract (chalone). Virch. Arch. B. Zellpath. 4, 119, 1969.
24. ELGJO, K.: Epidermal chalone and cyclic AMP: an in vivo study. J. invest. Derm. 64, 14, 1975.
25. ELGJO, K.: Evidence for presence of the epidermal G₂ - inhibitor ("epidermal chalone") in dermis. Virch. Arch. B. Zellpath. 16, 143, 1974.
26. ELGJO, K.: Chalone inhibition of cellular proliferation. J. invest. Derm. 59, 81, 1972.

27. ELGJO, K.; LAERUM, O. D.; EDGEHILL, W.: Growth regulation in mouse epidermis. I. G_2 - inhibitor present in the basal cell layer. Virch. Arch. B. Zellpath. 8, 277, 1972.
28. FAIMAN, C.; WINTER, J. S. D.: Diurnal cycles in plasma FSH, testosterone and cortisol in men. J. clin. endocrin. 33, 186 - 192, 1971.
29. FISHER, L. B.: Determination of the normal rate and duration of mitosis in human epidermis. Brit. J. Derm. 80, 24, 1968.
30. FISHER, L. B.: The diurnal mitotic rhythm in the human epidermis. Brit. Derm. 80, 75, 1968.
31. FISHER, L. B.; MAIBACH, H.: The effect of corticosteroids on human epidermal mitotic activity. Arch. Derm. (Chicago) 103, 39, 1971.
32. GELFANT, S.: The cell cycle in psoriasis: a reappraisal. Brit. J. Derm. 95, 577, 1976.
33. GELFANT, S.: "Of Mice and Man" the cell cycle in human epidermis in vivo. The journal of investigative Dermatology, 78, 296 - 299, 1982.
34. GLOOR, M.; REIMUS, H. D.; WIRTH, H.: Cell-kinetic investigations on the epidermis of uninvolved skin of patients suffering from seborrheic eczema. Arch. Derm. Res. 272, 139 - 141, 1982.
35. GORDON, R. D.; SPINKS, J.; DULMANIS, A.; HUDSON, B.; HALBERG, F.; BARTTER, F. G.: Amplitude and phase relations of several circadian rhythms in human plasma and urine: demonstration of rhythm for tetrahydrocortisol and tetrahydrocorticosterone. Clin. Sci. 35, 307 - 324, 1968

36. GRUNDMANN, E.: Der mitotische Zellcyclus. In: Hdb. allg. Path. Bd. II/2I 282, Springer Berlin, Heidelberg, New York, 1971.
37. HALPRIN, K. M.: Epidermal "turnover - time" - a reexamination . Brit. J. Derm. 86, 14, 1972.
38. HELPAP, B.; MAURER, W.: Autoradiographische Untersuchungen zur Frage der Vergleichbarkeit des Einbaues von markiertem Thymidin unter in vivo-Bedingungen und bei Inkubation von Gewebeproben. Virch. Arch. B. Zellpath. 4, 102 - 118, 1969.
39. HELPAP, B.; STIENS, R.: Die Bedeutung der Zellkinetik bei der Behandlung maligner Tumoren. Dtsch. med. Wschr. 99, 1815 - 1820, 1974.
40. HELPAP, B.; STIENS, R.; GROULS, V.: Autoradiographische Untersuchungen zum Thymidin-Einbau nach mehrstündiger Inkubation von Rattenlebern. Histochemie 34, 305 - 316, 1973.
41. HENNINGS, H.; ELGJO, K.: Hydrocortisone: Inhibition of DNA synthesis and mitotic rate after local application to mouse epidermis. Virch. Arch. B. Zellpath. 8, 42, 1971.
42. HENNINGS, H.; ELGJO, K.; IVERSEN, O. H.: Delayed inhibition of epidermal DNA synthesis after injection of an aqueous skin extract (chalone). Virch. Arch. B. Zellpath. 4, 45, 1969.
43. HOWARD, A.; PELC, S. R.: Nuclear incorporation of P-32 as demonstrated by autoradiographs. Exp. Cell. Res. 2, 178, 1951.

44. IVERSEN, O. H.: The regulation of cell numbers in epidermis. A cybernetic point of view. Acta. path. microbiol. scand. suppl. 148, 91, 1961.
45. IVERSEN, O. H.: Chalones of the skin. In: Wolstenhome, G. E. W. and Knight, J.: Ciba foundation symposium on homeostatic regulators. Churchill, London, 1969.
46. KAHN, G.; WEINSTEIN, G. D. ;FROST, P.: Kinetics of human epidermal cell proliferation: diurnal variation. J. invest. Derm. 50, 459, 1968.
47. KOBURG, E.: Autoradiographische Untersuchungen zum Nucleinsäurestoffwechsel einzelner Zellarten der Lunge. Verh. dtsch. ges. Path. 44, 160 - 166, 1960.
48. KRIEGER, D. T.; ALLEN, W.; RIZZO, F.; KRIEGER, H. P.: Characterization of the normal temporal pattern of plasma corticosteroid levels. J. clin. endocrin. 32, 266 -284, 1971.
49. LACHAPELLE, J. M.: Isotopic labelling of cutaneous structures. A preliminary comparison of local in vivo and in vitro techniques applied to healthy and pathological human skin. Br. J. Derm. 81, 299 - 305, 1969.
50. LACHAPELLE, J. M.: Validité de la méthode "in vitro" comme méthode de marquage instantané de la thymidine tritiée. Ann. Derm. Syph. (Paris) 97, 522 - 524, 1970.
51. LACHAPELLE, J. M.; GILLMAN, T. : Tritiated thymidine labelling of normal human epidermal cell nuclei: a comparison, in the same subjects, of in vivo and in vitro techniques. B. J. Derm. 81, 603 - 616, 1969.

52. LEBLOND, C. P.; MESSIER, B.; KOPRIWA, B.: Thymidine-H-3 as a tool for the investigation of the renewal of cell populations. Lab. invest. 8, 296 - 308, 1959.
53. LISSNER, J.; HUG, O.: Radiologie - Kompendium für den 1. klinischen Studienabschnitt. Enke, Stuttgart, 1975.
54. LOMMER, D.; DISTLER, A.; NAST, H. P.; SINTERHAUF, K.; WALTER, U.; WOLFF, H. P.: Tagesprofile von Plasmaaldesteron, -Cortisol, -Renin, -Angiotensinogen und -Angiotensinasen bei Normalpersonen. Klin. Wschr. 54, 123 - 130, 1970.
55. MARKS, F.; REBIEN, W.: Cyclic 3' - 5' -AMP and theophylline inhibit epidermalmitosis in G₂-phase. Naturwissenschaften 59, 41, 1972.
56. MENDELSON, M. L.: Autoradiographic analysis of cell proliferation in spontaneous breast cancer C3H-mouse. III. The growth fraction. J. Nat. Cancer Inst. Monograph. 28, 1015, 1962.
57. MESSIER, B.; LEBLOND, C. P.: Cell proliferation and migration as revealed by autoradiography after injections of thymidine-H-3 into male rats and mice. Amer. J. Anat. 106, 247 - 285, 1960.
58. NICHOLS, C. T.; TYLER, F. H.: Diurnal variation in adrenal cortical function. Am. rev. Med. 18, 313 -324, 1967.
59. ORTH, D. N.; ISLAND, D. P.; LIDDLE, G. W.: Experimental alteration of the circadian rhythm in plasma cortisol (17-OHCS) concentration in man. J. clin. endocrin. 27, 549 - 555, 1967.

60. PERKOFF, G. T.; EIK-NES, K.; NUGENT, C. A.; FRED, H. L.; NIMER, R. A.; RUSH, L.; SAMUELS, L. T.; TYLER, F. H. : Studies of the diurnal variation of plasma 17-hydroxy-corticosteroids in man. J. clin. endocrin. 19, 432 - 443, 1959.
61. POTTEN, C. S.: Epidermal cell production rates. J. invest. Derm. 65, 488, 1975.
62. PUJOL-AMAT, P.; DAVI, E.; MARTIN-GOMIN, J.; MONFORT, R.: Diurnal variation in cyclic AMP in plasma. Lancet. February 26, p. 489, 1977.
63. PULLMANN, H.; LENNARTZ, K. J.; STEIGLEDER, G. K.: In vitro examination of cell proliferation in normal and psoriatic epidermis, with special regard to diurnal variations. Arch. Derm. Forsch. 250, 177, 1974.
64. RAJEWSKY, M. F.: Zellproliferation in normalen und malignen Geweben: 3H-Thymidin-Einbau in vitro unter Standardbedingungen. Biophysik 3, 65 -93, 1966.
65. RAJEWSKY, M. F.: Proliferative parameters of mammalian cell system and their role in tumor growth and carcinogenesis. Z. Krebsforsch. 78, 12, 1972.
66. ROBINSON, G. A.; BUTCHER, R. W.; SUTHERLAND, E. W.: Cyclic AMP . Academic Press, New York, 1971.
67. ROHRBACH, R.: Zur Steuerung der Zellproliferation durch Chalone. Veröffentl. aus d. Path. 99, Fischer Stuttgart, 1975.

68. ROWE, L.; DIXON, W. J.: Clustering and control of mitotic activity in human epidermis. The Journal of investigative Dermatology 58, 16 - 23, 1972.
69. SCOTT, E. J.; van, FLAXMAN, B. A.: Lesion kinetics in psoriasis. Acta derm. - vener. (Stockh.) 73, 75, 1973.
70. SKELLEY, D.S.; BROWN, L. P.; BESCH, P. K. : Radioimmuno-assay. Clin. Chem. 19, 146 - 186, 1973.
71. SUTHERLAND, E. W.; RALL, T. W.: Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. J. biol. Chem. 232, 1077, 1958.
72. SCHELL, H.: Biorhythmik und Epidermisproliferation. Grosse scripta 4, Grosse, Berlin 1978.
73. SCHELL, H.; SCHMID, G. H.; HORNSTEIN, O. P.; ZEISSLER, H. J.: Untersuchungen über die Tagesperiodik des 3H-Indexes im Epithel der Wangenschleimhaut und in der Rückenepidermis der männlichen Ratte. Arch. Derm. Forsch. 250, 253 - 260, 1974.
74. SCHELL, H.; SCHWARZ, W.; HORNSTEIN, O. P.; BERNLOCHNER, W.; WEGHORN, C.: Evidence of diurnal variation of human epidermal cell proliferation. Arch. Dermatol. Res. 271, 41 - 47, 1981.
75. SCHELL, H.; SCHWARZ, W.; HORNSTEIN, O. P.: Tagesverlauf von Serumcortisol bei progressiver Sklerodermie und endogenem Ekzem. Der Hautarzt, Supplementum V, 32, Jahrgang 1981.

76. SCHEVING, L. E.: Mitotic activity in the human epidermis. Anat. Res. 135, 7, 1959.
77. SCHULTZE, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nuclein-säure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. Hdb. allg. Path. Bd. II/5, 466 - 670. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1968.
78. STEVANOVICH, V.: The role of cyclic nucleotides in skin and the therapy of psoriasis. Front. Matrix Biol. 6, 136, Karger, Basel, 1978.
79. VOORHEES, J. J.; DUELL, E. A.: The possible role of the chalone mechanisms in psoriasis. In: Psoriasis. Ed. Farber, E. M. and Cox, A. I. pp. 305 - 316, Stanford, Calif. Stanford, University Press, 1971.
80. VOORHEES, J. J.; MARCELO, C. L.; DUELL, E. A.: Cyclic AMP, cyclic GMP, and glucocorticoids as potential metabolic regulators of epidermal proliferation and differentiation. J. invest. Derm. 65, 179, 1975.
81. VOORHEES, J. J.; MIER, P. D.: The epidermis and cyclic AMP. Brit. J. Derm. 90, 223, 1974.
82. WEINSTEIN, G. D.; FROST, P.: Cell proliferation kinetics in benign and malignant skin diseases in humans. J. nat. cancer Inst. Monograph. 30, 225, 1969.
83. WEINSTEIN, G. D.; FROST, P.: Replacement kinetics. In: Dermatology in general medicine. Ed. Fitzpatrick et al; Mc Graw-Hill Book Comp. New York pp. 78 - 86, 1971.

84. WEISS, P.; KAVANAU, J. L.: A model of growth control in mathematical terms. J. gen. Physiol. 41, 1, 1957.
85. WEITZMAN, E. D.; FUKUSHIMA, D.; NOGEIRE, Ch.; ROFFWARG, H.; GALLAGHER, T. F.; HELLMAN, L. :Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. J. clin. endocrin. 33, 14 - 22, 1971.
86. WILLINGHAM, M. C.; JOHNSON, G. S.; PASTAN, J.: Control of DNA-synthesis and mitosis in 3T3 cells by cyclic AMP. Biochem. biophys. Res. Commun. 48, 743, 1972.
87. WILSON, L.; MARKS, M.: Mechanism of topical corticosteroid activity. A Glaxo Symposium. Churchill, Livingstone, Edinburgh, London, New York, 1976.
88. ZUM WINKEL, K.: Nuklearmedizin. Springer, Berlin - Heidelberg - New York, 1975.

7. Anhang (Tab. 8 - 18)

VP:	Versuchsperson
VNr:	Versuchsnummer
EZ:	Entnahmezeitpunkt (h)
BZ:	Basalzellen gesamt
mBZ:	markierte Basalzellen
mSBZ:	markierte Suprabasalzellen
mZ:	markierte Basalzellen + markierte Supra- basalzellen
LI:	^3H -Index gesamt (%)
$L\bar{I}$:	Mittelwert des ^3H -Indexes gesamt aus 2 Einzelproben der gleichen Versuchsperson für einen Entnahmezeitpunkt (%)
mSBZ/mBZ:	Quotient aus markierten Suprabasalzellen zu markierten Basalzellen
$\overline{\text{mSBZ/mBZ}}$:	Mittelwert aus Verhältnis mSBZ/mBZ
MW:	Mittelwert
Δ :	Prozentuale Abweichung zwischen 2 Einzel- proben der gleichen Versuchsperson für einen Entnahmezeitpunkt

SERIE I

VP	VNr	EZ (h)	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	Δ	$\bar{LI}$	mSBZ/mBZ
1	5	8.00	2061	91	178	269	13,05	0,68	13,39	1,96
			2418	114	218	332	13,73			1,91
		12.00	2033	64	105	169	8,31	0,44	8,53	1,64
			2297	76	125	201	8,75			1,64
		16.00	2165	145	134	279	12,89	1,53	13,66	0,94
			1985	135	146	281	14,42			1,08
		20.00	2187	132	134	266	12,16	0,84	12,58	1,02
			1949	106	172	278	13,00			1,62
2	7	8.00	2540	134	122	256	10,07	1,20	10,67	0,91
			2058	118	114	232	11,27			0,96
		12.00	2449	149	116	265	10,80	1,35	10,12	0,77
			2212	106	103	209	9,45			0,97
		16.00	2236	100	106	206	9,21	1,35	9,88	1,06
			2556	120	150	270	10,56			1,25
		20.00	2499	89	66	155	6,20	0,82	6,61	0,74
			2238	94	63	157	7,02			0,67
3	15	8.00	2073	61	79	140	6,75	0,75	6,37	1,30
			2081	43	82	125	6,00			1,90
		12.00	2081	51	84	135	6,49	1,22	7,10	1,37
			1959	60	91	151	7,71			1,51
		16.00	2053	72	98	170	8,28	1,38	7,67	1,36
			2353	63	99	162	6,90			1,57
		20.00	2314	41	90	131	5,66	0,88	5,22	2,20
			2401	51	64	115	4,78			1,25

Tab. 8: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen in Serie I

SERIE II

VP	VNr	EZ (h)	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	Δ	$\overline{LI}$	mSBZ/mBZ
4	27	10.00	2018	76	125	201	9,96	1,32	10,62	1,64
			2030	112	117	229	11,28			1,04
		14.00	2035	80	75	155	7,62	1,17	8,20	0,93
			2014	69	108	177	8,79			1,56
		18.00	2005	71	130	201	10,02	3,06	11,55	1,83
			2010	106	157	263	13,08			1,48
		22.00	2035	70	141	211	10,36	1,29	9,72	2,02
			2028	69	115	184	9,07			1,67
5	30	10.00	2006	20	44	64	3,19	2,11	4,25	2,20
			2019	50	57	107	5,30			1,14
		14.00	2019	47	107	164	8,12	1,34	7,45	2,28
			2006	59	77	136	6,78			1,30
		18.00	2026	49	53	102	5,03	0,07	5,06	1,08
			2003	50	52	102	5,10			1,04
		22.00	2037	37	38	75	3,70	0,90	3,30	1,02
			2032	25	32	57	2,80			1,28
6	42	10.00	2019	22	35	57	2,80	0,30	2,95	1,59
			2035	27	36	63	3,10			1,33
		14.00	2011	31	38	69	3,40	0,10	3,35	1,22
			2036	32	36	68	3,30			1,13
		18.00	2017	35	39	74	3,70	0,25	3,57	1,12
			2002	26	43	69	3,45			1,65
		22.00	2020	50	51	101	5,00	0,21	4,90	1,02
			2006	44	52	96	4,79			1,18

Tab. 9: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen aus Serie II

SERIE III

VP	VNr	EZ (h)	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	Δ	$\bar{L\bar{I}}$	mSBZ/mBZ
7	46'	20.00	2016	42	66	108	5,36	0,37	5,54	1,57
			2005	54	61	115	5,73			1,13
	24.00		2004	32	41	73	3,64	0,02	3,63	1,28
			1988	37	35	72	3,62			0,95
	4.00		2025	29	38	67	3,31	1,19	3,91	1,31
			2002	25	63	88	4,50			2,51
	8.00		2027	39	43	82	4,05	1,58	4,84	1,10
			2006	40	63	113	5,63			1,58
8	44	20.00	2002	40	66	106	5,29	0,00	5,29	1,65
			2002	42	64	106	5,29			1,52
	24.00		2016	52	71	123	6,10	1,20	6,70	1,37
			2059	66	86	152	7,30			1,30
	4.00		2027	75	44	119	5,87	1,33	6,50	0,59
			2028	52	94	146	7,20			1,80
	8.00		2170	53	77	130	5,99	0,96	5,51	1,45
			2049	44	59	103	5,03			1,34
9	45	20.00	2080	51	50	101	4,86	0,11	4,81	0,98
			2064	39	59	98	4,75			1,51
	24.00		2041	38	65	103	5,05	1,82	4,14	1,71
			2011	23	42	65	3,23			1,83
	4.00		2064	40	57	97	4,70	1,22	5,31	1,43
			1992	48	70	118	5,92			1,46
	8.00		2014	31	47	78	3,87	3,28	5,51	1,51
			2181	74	82	156	7,15			1,10

Tab. 10: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen aus Serie III

SERIE IV

VP	VNr	EZ (h)	BZ	mBZ	mSBZ	mZ	LI	Δ	$\bar{L}$	mSBZ/mBZ
10	47'	22.00	2102	50	87	137	6,52	0,39	6,72	1,74
			2041	83	58	141	6,91			0,70
	2.00	2038	46	57	103	5,05	0,77	5,44	1,24	
		2027	52	66	118	5,82			1,27	
	6.00	2031	33	54	87	4,28	0,66	3,95	1,63	
		2042	35	39	74	3,62			1,11	
	10.00	2006	41	62	103	5,13	0,00	5,13	1,51	
		2027	35	59	104	5,13			1,69	
11	49	22.00	2115	33	36	69	3,26	0,91	3,72	1,09
			2013	34	50	84	4,17			1,47
	2.00	2112	39	43	82	3,88	0,44	3,66	1,10	
		2031	28	42	70	3,44			1,50	
	6.00	2052	26	48	74	3,60	0,20	3,70	1,85	
		1999	36	40	76	3,80			1,11	
	10.00	2023	36	61	97	4,79	0,31	4,95	1,69	
		2016	37	66	103	5,10			1,78	
12	50	22.00	2021	31	70	101	4,99	0,34	5,16	2,25
			2026	36	72	108	5,33			2,00
	2.00	2048	33	58	91	4,44	0,01	4,45	1,76	
		2090	31	62	93	4,45			2,00	
	6.00	2012	25	53	78	3,87	0,55	4,15	2,12	
		2013	28	62	89	4,42			2,21	
	10.00	2040	32	62	94	4,60	0,38	4,79	1,94	
		1927	29	62	96	4,98			2,14	
mSBZ/mBZ: 1,44 $\pm$ 0,41										

Tab. 11: Zellkinetische Werte der Versuchspersonen aus Serie IV

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	13,39	8,53	13,66	12,58
VP 2	10,67	10,12	9,88	6,61
VP 3	6,37	7,10	7,60	5,22
MW	10,14	8,58	10,38	8,13

<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 4	10,62	8,20	11,55	9,72
VP 5	4,25	7,45	5,06	3,30
VP 6	2,95	3,35	3,57	4,90
MW	5,94	6,33	6,72	5,97

<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 7	5,54	3,63	3,91	4,84
VP 8	5,29	6,70	6,50	5,51
VP 9	4,81	4,14	5,31	5,51
MW	5,21	4,82	5,24	5,28

<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 10	6,71	5,43	3,95	5,13
VP 11	3,71	3,66	3,70	4,95
VP 12	5,16	4,44	4,15	4,79
MW	5,19	4,51	3,93	4,95

Tab. 12: Absolutwerte des mittleren ^3H -Indexes aller Versuchspersonen nach Serien geordnet

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	1,35	-3,51	1,62	0,54
VP 2	1,35	0,80	0,56	-2,70
VP 3	-0,20	0,53	1,03	-1,35
MW	0,83	-0,72	1,07	-1,17

<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 4	0,60	-1,82	1,53	-0,30
VP 5	-0,77	2,43	0,00	-1,72
VP 6	-0,74	-0,34	-0,12	1,21
MW	-0,30	0,09	0,47	-0,27

<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 7	1,06	-0,85	-0,57	0,36
VP 8	-0,71	0,70	0,50	-0,49
VP 9	-0,13	-0,80	0,37	0,57
MW	0,07	-0,32	0,1	0,15

<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 10	1,40	0,12	-1,36	-0,18
VP 11	-0,30	-0,35	-0,31	0,94
VP 12	0,53	-0,19	-0,48	0,16
MW	0,54	-0,14	-0,72	0,31

Tab. 13: ³H-Index in Abweichung vom Mittelwert aller Versuchspersonen nach Serien geordnet

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	11,21	-29,15	13,46	4,49
VP 2	14,48	8,58	6,01	-29,08
VP 3	-3,04	8,07	15,68	-20,55
MW	7,55	-4,17	11,72	-15,05

<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 4	5,99	-18,16	15,27	-2,99
VP 5	-15,34	48,41	0,00	-34,26
VP 6	-20,05	-9,21	-3,25	32,79
MW	-9,80	7,01	4,01	-1,49

<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 7	23,66	-18,97	-12,72	8,04
VP 8	-11,83	11,67	8,33	-8,17
VP 9	-2,63	-16,19	7,49	11,54
MW	3,01	-7,83	1,03	3,80

<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 10	26,37	2,26	-25,61	-3,39
VP 11	-7,48	-8,75	-7,73	23,44
VP 12	11,45	-4,10	-10,37	3,46
MW	10,11	-3,53	-14,57	7,84

Tab. 14: ³H-Index in prozentualer Abweichung vom Mittelwert aller Versuchspersonen nach Serien geordnet

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	137,09	123,20	73,41	36,85
VP 2	62,86	70,78	38,75	44,10
VP 3	158,07	161,05	43,48	36,20
MW	119,34	118,34	51,88	39,05

<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 4	251,56	201,82	197,41	175,81
VP 5	130,27	109,66	160,27	120,72
VP 6	134,25	279,08	185,81	52,38
MW	205,36	196,85	181,16	116,30

<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 7	13,25	7,03	40,64	91,54
VP 8	42,79	40,48	24,19	164,62
VP 9	75,91	31,38	52,98	125,34
MW	43,98	26,3	39,27	127,16

<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 10	42,29	112,07	182,48	62,32
VP 11	25,90	21,00	282,83	157,10
VP 12	34,04	1,35	151,64	54,83
MW	34,08	44,80	205,65	91,42

Tab. 15: Cortisolabsolutwerte aller Versuchspersonen
nach Serien geordnet (ng/ml)

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	44,45	30,56	-19,23	-55,79
VP 2	8,73	16,65	-15,38	-10,03
VP 3	58,37	61,35	-56,22	-63,50
MW	37,18	32,34	-30,27	-43,11

<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 4	44,91	-4,83	-9,24	-30,84
VP 5	75,04	-45,57	5,04	-34,51
VP 6	-28,63	116,20	22,93	-110,50
MW	30,44	21,93	6,24	-58,62

<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 7	-24,87	-31,09	2,52	53,42
VP 8	-25,23	-27,57	-43,83	96,60
VP 9	4,51	-40,02	-18,42	53,94
MW	-15,20	-32,89	-19,91	67,99

<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 10	-57,50	12,28	82,69	-37,47
VP 11	-95,80	-100,70	161,13	35,40
VP 12	-12,96	-59,12	91,17	-5,64
MW	-55,42	-49,18	11,66	-2,57

Tab. 16: Cortisol in Abweichung vom Mittelwert aller Versuchspersonen nach Serien geordnet (ng/ml)

<u>Serie I</u>	8.00 Uhr	12.00 Uhr	16.00 Uhr	20.00 Uhr
VP 1	47,98	24,80	-20,76	-60,22
VP 2	16,14	30,76	-28,41	-18,53
VP 3	58,55	61,53	-56,39	-63,69
MW	40,89	39,09	-35,19	-47,48

<u>Serie II</u>	10.00 Uhr	14.00 Uhr	18.00 Uhr	22.00 Uhr
VP 4	21,73	-0,02	-4,47	-14,92
VP 5	48,34	-29,36	3,25	-22,23
VP 6	-17,58	71,34	14,08	-67,84
MW	17,50	13,99	4,29	-35,00

<u>Serie III</u>	20.00 Uhr	24.00 Uhr	4.00 Uhr	8.00 Uhr
VP 7	-65,24	-81,56	6,61	140,14
VP 8	-37,09	-40,53	-64,44	142,02
VP 9	6,32	-56,05	-25,80	75,55
MW	-32,00	-59,38	-27,88	119,24

<u>Serie IV</u>	22.00 Uhr	2.00 Uhr	6.00 Uhr	10.00 Uhr
VP 10	-57,62	12,31	82,86	-37,56
VP 11	-78,72	-82,74	132,40	29,09
VP 12	-21,43	-97,76	140,90	-9,33
MW	-52,59	-56,06	118,72	-5,93

Tab. 17: Cortisol in prozentualer Abweichung vom Mittelwert aller Versuchspersonen nach Serien geordnet

Cortisolmittelwert (ng/ml) aus VP 1 - 6 um 8 Uhr und um 10 Uhr	145,68 $\pm$ 61,10
Cortisolmittelwert (ng/ml) aus VP 7 - 12 um 20 Uhr und um 22 Uhr	39,03 $\pm$ 21,20
³ H-Index-Mittelwert (%) aus VP 1 - 6 um 8 Uhr und um 10 Uhr	8,04 $\pm$ 4,13
³ H-Index-Mittelwert (%) aus VP 7 - 12 um 20 Uhr und um 22 Uhr	5,20 $\pm$ 0,98

Tab. 18: Zellkinetische und hormonanalytische
Werte zu Abb. 29 in Absolutwerten

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. O. P. Hornstein für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Untersuchung an der Dermatologischen Universitätsklinik.

Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich Herrn Prof. Dr. med. H. Schell für seine Förderung und stete Hilfsbereitschaft sowie für seine wertvollen Anregungen bei der Durchführung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Dipl. Chem. Dr. W. Schwarz für die Bestimmung der Cortisolwerte, sowie Frau Dr. Dr. Guggenmoos-Holzmann vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Erlangen-Nürnberg für die Beratung hinsichtlich statistischer Fragen und Darstellung der Einzelergebnisse.

Gleichfalls danken möchte ich Frau G. Ritter für die Anfertigung der histoautoradiographischen Präparate.

Curriculum vitae

Name: H o c k, Josephine, geb. Winter
Geboren: 19. 7. 1950 in Bamberg
Eltern: Johann Winter, Finanzbeamter, verstorben
am 5. 10. 1975
Martha Winter, geb. Zimmermann
Eheschließung: September 1970 mit Robert Hock
Vorbildung: 1956 - 1962 Volksschule Bamberg
1962 - 1966 Städt. Realschule Bamberg
1966 - 1967 Haushaltsjahr in Bamberg
1967 - 1970 Kinderkrankenpflegeschule
in Bayreuth
Berufsausübung: 1970 - 1972 Kinderkrankenschwester in
der Universitätskinderklinik
Erlangen-Nürnberg
Okt.-Dez.72 Kinderkrankenschwester in der
Dermatologischen Universitäts-
klinik Erlangen-Nürnberg
1973 - 1974 Kinderkrankenschwester in der
Krankenhausstiftung Bamberg
1972 - 1976 Erzbischöfliches Abendgymnasium
für Berufstätige in Bamberg
Studiengang: 25. 6. 1976 Abitur
13. 9. 1976 inskribiert für das Studium der
Zahnheilkunde an der Friedrich-
Alexander-Universität Erlangen-
Nürnberg
4. 8. 1977 Naturwissenschaftlicher Abschnitt
der zahnärztlichen Vorprüfung
4. 4. 1979 Zahnärztliche Vorprüfung
18.12. 1981 Abschluß des Staatsexamens
30.12. 1981 Bestallung als Zahnärztin
Berufsausübung: ab 1.2. 1982 Assistenz Zahnärztin in Bamberg

